

Teratologische Studien mit Imipramin an Ratte und Kaninchen

Ein Beitrag zur Planung und Interpretation
teratologischer Untersuchungen unter Berücksichtigung
von Biochemie und Toxikologie der Prüfsubstanz

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II

der

UNIVERSITÄT ZÜRICH

von

Lislott Aeppli

aus Zürich

1970

Begutachtet von den Herren

Prof. Dr. E. Hadorn

Prof. Dr. G. Töndury

Zürich 1969



Sonderdruck aus:
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) **19**, 1617—1640 (1969)

Teratologische Studien mit Imipramin an Ratte und Kaninchen*)

Ein Beitrag zur Planung und Interpretation teratologischer Untersuchungen unter Berücksichtigung von Biochemie und Toxikologie der Prüfsubstanz

Von Lislott Aepli

Auf der zweiten internationalen Konferenz über kongenitale Mißbildungen in New York 1963 nannte Fraser [39] acht Gesichtspunkte, unter welchen die teratologische Prüfung einer Substanz zu erfolgen habe, damit die Ergebnisse eine maximale Aussagekraft besitzen. Seine Ausführungen lassen sich wie folgt kurz zusammenfassen: „Wähle innerhalb einer empfindlichen Tierart einen empfindlichen Genotyp und verabreiche ihm die zu untersuchende Verbindung in der richtigen Dosis auf dem richtigen Applikationsweg zum richtigen Zeitpunkt der Trächtigkeit in der richtigen Umgebung. Werte die Resultate mit der richtigen Methode aus und vergleiche sie mit der richtigen Kontrolle.“

In der vorliegenden Arbeit wird auf zwei Kriterien, Species und Dosis, besonderes Gewicht gelegt und ihre Bedeutung für das teratologische Experiment hervorgehoben.

Die Species in einem teratologischen Versuch sollte im Gegensatz zum bisher üblichen Vorgehen nicht erst nach dem Experiment passiv als „empfindlich oder nicht empfindlich“ bezeichnet, sondern aktiv nach dem biochemischen Kriterium ausgewählt werden „entspricht der Metabolismus der zu untersuchenden Substanz (quantitativ und qualitativ) weitgehend dem des Menschen oder nicht“, denn für eine Extrapolation von Versuchsergebnissen auf den Menschen besitzen diejenigen Experimente eine zuverlässigere Aussagekraft, welche diesen Gesichtspunkt berücksichtigen.

Auch eine Dosis sollte nicht mehr allein als „keimschädigend oder nicht keimschädigend“ bezeichnet werden. Es ist unumgänglich anzugeben, ob sie vom Muttertier gut vertragen wurde oder nicht, da erst die Erfassung einer eventuellen mütterlichen Toxizität die korrekte Interpretation von Resultaten im Hinblick auf eine primär- oder sekundär-fruchtschädigende Wirkung der untersuchten Substanz gestattet.

Diese Postulate bilden die Grundlage für den experimentellen Teil der vorliegenden Studie. Am Beispiel von Imipramin soll aufgezeigt werden, welche Schlussfolgerungen aus teratologischen Versuchen gezogen werden können, die unter Berücksichtigung von Metabolismus und Toxikologie der untersuchten Verbindung durchgeführt werden.

I. LITERATURÜBERSICHT

A) METABOLISMUS DES IMIPRAMIN

Die chemische Konstitution von Imipramin**) ist in Abb. 1 dargestellt.

Im Jahre 1899 publizierten Thiele u. Holzinger [84] den ersten Bericht über die Synthese von Iminodibenzyl. Diese Verbindung geriet jedoch für ein halbes Jahrhundert wieder in Vergessenheit, bis man ihr — infolge der Strukturähnlichkeit mit Phenothiazin — die Aufmerksamkeit erneut zuwandte. Kuhn [60] erkannte bei der ausgedehnten klinischen Prüfung ver-

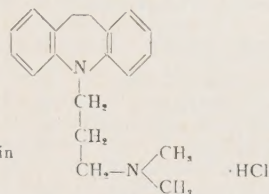


Abb. 1: Imipramin

schiedener Iminodibenzyl-Derivate als erster neben einem schwach neuroleptischen Effekt die ausgeprägte antidepressive Wirkung von Imipramin. Mit dem Bekanntwerden dieser für ein Pharmakon neuartigen Wirkung setzte von verschiedener Seite dann u. a. die Forschung nach dem Metabolismus dieser Verbindung bei Mensch und Tier ein. Im folgenden werden die bisher bekannten Ergebnisse auf diesem Gebiet referiert.

1. Allgemeines

Um die Übersicht aller bisher in vivo nachgewiesenen Metaboliten von Imipramin (IP) zu erleichtern, wurden diese in Tab. 1 zusammengestellt. Die dabei eingeführten gebräuchlichen Abkürzungen für Muttersubstanz und Abbauprodukte werden im folgenden verwendet.

Resorption und Verteilung von IP im Organismus erfolgen bei Mensch und Tier sehr rasch [2, 11, 15, 27, 29, 40, 48, 53]. Dabei wird eine ausgesprochene Affinität zu bestimmten Organen wie Leber, Lunge und Niere beobachtet, was ein rasches Absinken der Konzentration im Plasma zur Folge hat.

Die in-vivo-Stoffwechselprodukte von IP entstehen durch folgende Metabolisierungsschritte:

N-De-methylierung,

Hydroxylierung des aromatischen bzw. heterocyclischen Ringes,

Seitenketten-Desalkylierung,

N-Oxydation,

N-Oxyd-Reduktion,

Glucuronsäure-Konjugation.

Ordnet man die Metaboliten von IP nach den in vivo stattfindenden Abbauprozessen, so läßt sich das in Abb. 2 wiedergegebene Schema aufstellen.

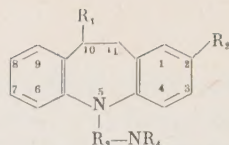
Wie Versuche von Dingell [27, 29] gezeigt haben, ist in vitro bei der Ratte — und dies gilt vermutlich auch in vivo und für andere Species — von den untersuchten Organen vor allem die Leber imstande, IP zu metabolisieren. Die betreffenden Enzyme sind in den Mikrosomen lokalisiert und bedürfen der Anwesenheit von NADPH*) und O₂. Es handelt sich dabei um dasjenige Enzymsystem, welches für die Umsetzung der meisten lipoidlöslichen Stoffe verantwortlich ist.

Im Gegensatz zu diesen Befunden, nach welchen die Leber fast ausschließlich für die Metabolisierungsprozesse verantwortlich ist, haben neuere Experimente von Dingell et al. [30] ergeben, daß in vitro beim Kaninchen das Transferase-System der Lunge in hohem Maße zur Methylierung von DMI zu IP fähig ist; Herz- und Lebergewebe hingegen führen diesen Stoffwechselschritt nur in geringerem Maße durch. Analoge

*) Die vorliegende Arbeit wurde von der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich als Dissertation angenommen. Sie entstand unter der Leitung von Herrn Professor Dr. G. Töndury, Anatomisches Institut der Universität Zürich, dem ich an dieser Stelle für Anregungen und Hinweise herzlich danke. Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. E. G. Stenger für seine wertvolle Hilfe in Rat und Tat bei Durchführung der Versuche. Die experimentellen Arbeiten wurden in den wissenschaftlichen Laboratorien der J. R. Geigy A.G., Basel/Schweiz, durchgeführt.

**) Wirkstoff von Tofranil®; Hersteller: J. R. Geigy A.G., Basel.

*) = Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat-H.



Tab. 1: Imipramin und seine Metaboliten in vivo.

Abkürzung	Bezeichnung	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Species [Literatur]			
						Maus	Ratte	Kaninchen	Mensch
IP	Imipramin	H	H	(CH ₂) ₃	CH ₃ , CH ₃				
DMI	Desmethyl-imipramin	H	H	(CH ₂) ₃	CH ₃ , H	[3?]	[7, 10, 11, 21, 27, 29, 41, 52]	[27, 29, 52, 53]	[8, 27, 29, 53, 54]
DDMI	Desdesmethyl-imipramin	H	H	(CH ₂) ₃	H, H		[10, 11, 27, 29, 52]	[52]	[8, 53, 54]
IPNO	Imipramin-N-oxyd	H	H	(CH ₂) ₃	CH ₃ , CH ₃ O		[7, 10, 11]		[54]
IDB	Iminodibenzyl	H	H	H	—		[11]		[8, 55]
2-OH-IP	2-Hydroxy-imipramin	H	OH	(CH ₂) ₃	CH ₃ , CH ₃	[3?]	[7, 10, 11, 21]	[52, 53]	[53, 54, 77]
2-OH-DMI	2-Hydroxy-desmethyl-imipramin	H	OH	(CH ₂) ₃	CH ₃ , H		[7, 10, 11, 21]	[52]	[8, 54]
2-OH-DDMI	2-Hydroxy-desdesmethyl-imipramin	H	OH	(CH ₂) ₃	H, H		[10, 11?]		[54?]
2-OH-IDB	2-Hydroxy-iminodibenzyl	H	OH	H	—		[11]		[55]
10-OH-IP	10-Hydroxy-imipramin	OH	H	(CH ₂) ₃	CH ₃ , CH ₃				[20]
10-OH-DMI	10-Hydroxy-desmethyl-imipramin	OH	H	(CH ₂) ₃	CH ₃ , H				[20]
10-OH-DDMI	2-Hydroxy-desdesmethyl-imipramin	OH	H	(CH ₂) ₃	H, H				[20]
10-OH-IDB	10-Hydroxy-iminodibenzyl	OH	H	H	—				[20?]
2-OH-IP-GS*)	2-Hydroxy-imipramin-glucuronid	H	O-GS*)	(CH ₂) ₃	CH ₃ , CH ₃		[7, 10, 11]	[53]	
2-OH-DMI-GS*)	2-Hydroxy-desmethyl-imipramin-glucuronid	H	O-GS*)	(CH ₂) ₃	CH ₃ , H		[7, 10, 11]		[8]
2-OH-DDMI-GS*)	2-Hydroxy-desdesmethyl-imipramin-glucuronid	H	O-GS*)	(CH ₂) ₃	H, H		[11?]		
2-OH-IDB-GS*)	2-Hydroxy-iminodibenzyl-glucuronid	H	O-GS*)	H	—		[11]		

*) GS = Glucuronsäure
? = von den Autoren nicht eindeutig identifiziert

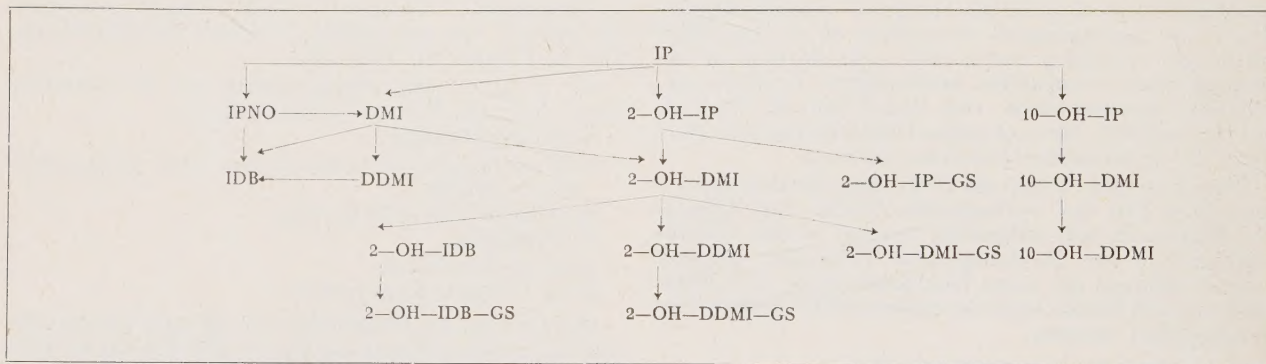


Abb. 2: Metabolismus von IP (Eigene Zusammenstellung auf Grund von Literaturangaben).

Untersuchungen an der Ratte ergaben negative Resultate.

Die im Organismus entstehenden Demethylierungsprodukte von IP sind nach Bickel et al. [5, 6, 9, 10], zumindest bei der Ratte, biochemisch relativ stabil und werden ihrer lipophilen Eigenschaften wegen nur in ganz geringen Mengen von der Niere ausgeschieden. Dadurch entstehen die Voraussetzungen für eine Accumulation dieser Metaboliten. Im Gegensatz zu ihnen werden die hydroxylierten Abbauprodukte von IP und DMI mit Glucuronsäure konjugiert. Infolge der guten Löslichkeit solcher Verbindungen findet eine rasche Elimination dieser phenolischen Metaboliten durch Harn und Faeces statt [6, 7, 11, 53].

Die oben beschriebenen Stoffwechselwege werden von den verschiedenen Species in qualitativer und quantitativer Hinsicht unterschiedlich begangen. Neben Speciesdifferenzen wurden bei der Ratte auch

Stammes- und Alters- [81] sowie Geschlechtsunterschiede in bezug auf die Demethylierungsrate von IP [4, 70] beobachtet.

2. Maus

Für diese Species finden sich in der Literatur relativ wenig Daten über den Metabolismus von IP. Dingell [27, 29] bestimmte die Halbwertszeiten von IP und DMI nach intravenöser Applikation im Ganztier. Sie beträgt für beide Substanzen ca. 50 min. Dies bedeutet, daß IP und DMI von der Maus mit großer Geschwindigkeit weitermetabolisiert werden und keine Accumulation von DMI stattfinden kann.

Herrmann et al. [53] beobachteten, daß IP und seine basischen Metaboliten (vor allem DMI) eine hohe Affinität zu Leber-, Nieren- und Lungengewebe aufweisen. Diese Befunde wurden bei Untersuchungen mit ¹⁴C-markiertem IP (Markierung der einen N-Methyl-

gruppe) durch Cassano et al. [15] und Hansson et al. [48] bestätigt. Sie finden auch ganz beträchtliche Aktivitäten in verschiedenen Teilen des ZNS, in Herz, NNR und Speicheldrüsen. Eine Untersuchung der Expirationsluft ergibt nur geringe Ausscheidung auf diesem Wege, was darauf hindeutet, daß die Maus IP nur schwach demethyliert. Im Harn können 34–54% der applizierten Menge, vorwiegend als Glucuronide, nachgewiesen werden. Interessant ist, daß auch die Haut eine relativ hohe Radioaktivität aufweist, die in den Haarfollikeln lokalisiert zu sein scheint. Dies läßt cutane Exkretion von Muttersubstanz oder Metaboliten vermuten.

Berti [3] beobachtete nach Verabreichung von IP bei der Papierchromatographie des Urins zwei Flecken, die sich chemisch dem Hydroxylierungs- und Demethylierungsprodukt von Chlorpromazin analog verhielten. Der Autor schließt daraus, daß es sich um 2-OH-IP und DMI handeln könnte.

3. Ratte

Bei der Ratte beherrschen die rasche und mengenmäßig starke Demethylierung von IP und 2-OH-IP, sowie die Accumulation von DMI und dessen langsamer Abbau das metabolische Geschehen [2, 5, 6, 9, 11, 22, 27, 28, 29, 41].

Die Halbwertszeiten im Ganztier betragen nach intravenöser Verabreichung für IP, DMI und DDMI 2½, 9 bzw. 12 h [27, 29], für DMI im Plasma der Ratte nach intraperitonealer Applikation 20 h [11]. Die Werte in den verschiedenen Organen schwanken nach parenteraler Injektion für IP zwischen 0,6 h (Hirn, mesenteriales Fettgewebe) und 16 h (Lunge), für DMI zwischen 3,5 h (Skelettmuskulatur) und 23 h (Niere) [11].

Bei der Analyse von Organen finden sich IP und die — bei dieser Species vorwiegend basischen — Metaboliten größtenteils in den parenchymatösen Geweben der Lunge, Leber, Nieren, Milz und Dünndarm [3, 11, 53]. Ihre Ausscheidung erfolgt in Faeces und Urin vor allem in Form phenolischer Metabolite und Glucuronide [7, 10, 11, 22].

Eine Bilanzstudie mit ¹⁴C-IP (in Position 10–11 markiert) durch Crammer et al. [22] ergibt, daß IP von der Ratte rasch und innerhalb 6 Tagen fast vollständig ausgeschieden wird. In den ersten 48 h nach der Applikation können bereits 75% und mehr der verabreichten Aktivität in Harn und Faeces erfaßt werden. 6 Tage nach der Applikation wurden auch die Organe der Tiere auf eventuelle Restaktivitäten hin geprüft, doch war das Resultat negativ. Diese Ergebnisse werden durch die neuesten Untersuchungen von Bickel et al. [11] in vollem Umfang bestätigt. Da in der Studie von Crammer et al. [22] die Expirationsluft der behandelten Tiere keine Radioaktivität aufweist, muß angenommen werden, daß IP seine tricyclische Natur beibehält und nicht in kleine Bruchstücke abgebaut wird. Verabreicht man den Ratten jedoch ¹⁴C-IP, das in der einen N-Methylgruppe markiert ist, so findet sich in der Atemluft eine relativ hohe Aktivität, was die Demethylierung als Hauptabbaupfad bei dieser Species bestätigt [2]. Weitere Daten über Resorption, Verteilung, Exkretion und Metabolismus bei der Ratte finden sich in der 1968 erschienenen, sehr ausführlichen Arbeit von Bickel [11].

4. Kaninchen

Im Gegensatz zur Ratte metabolisiert das Kaninchen vorwiegend in Richtung phenolischer Verbindungen und Glucuronide [3, 27, 29, 53]. Die Halbwertszeiten für IP und DMI nach intravenöser Applikation betragen im Plasma 2 respektive 1 h [27, 29], in den Organen für IP zwischen 2 h (Muskel, Nieren) und 5 h (Darm, Fett, Lunge) [27].

Ähnlich der Maus erfolgen Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung von IP und seinen Stoffwechselprodukten sehr rasch, eine Accumulation von DMI ist somit nicht möglich [27, 28, 29, 47]. Die höchsten Konzentrationen von Ausgangssubstanz und Metaboliten sind in Lunge, Leber, Niere und Milz anzutreffen [29, 53].

Die von Dingell et al. [50] in vitro nachgewiesene Leberglykierung von DMI zu IP in Lungen-, Herz- und Lebergewebe ist bisher in vivo nicht untersucht worden.

Die Ausscheidung der Metaboliten im Urin erfolgt hauptsächlich in Form von Glucuroniden; es werden nur geringe Mengen von unverändertem IP gefunden [4, 27, 29, 40].

5. Mensch

Beim Menschen stellt, wie bei der Ratte, die Demethylierung von IP den bevorzugten Abbaupfad dar [54, 55, 61]. Mehrere Autoren zeigen die enge Analogie auf, welche bei diesen beiden Species im Stoffwechsel von IP besteht [6, 7, 10, 11, 22, 27, 29].

Zum Beispiel wurden in einem Vergiftungsfall mit Tofranil in den Geweben höhere Konzentrationen von DMI gefunden als von der Muttersubstanz oder DDMI. Daraus darf man schließen, daß auch beim Menschen eine Akkumulation von DMI stattfindet [27, 29]. Eine Untersuchung der Organe bei dieser und anderen Intoxikationen läßt erkennen, daß sich IP und/oder seine Stoffwechselprodukte vor allem in Lunge, Leber, Niere, Milz, Hirn und Herz anhäufen [27, 29, 32, 53, 54]. In einem Fall, bei dem ein Kind versehentlich hohe Dosen von N-(γ-Methylaminopropyl)-iminodibenzyl-HCl (Pertofran®*) — dessen Wirksubstanz DMI ist — eingenommen hatte, war die Verteilung des Präparates und seiner Metaboliten post mortem in den verschiedenen Geweben derjenigen nach Gaben von DMI an der Ratte ähnlich [8].

Da die Bestimmung der Halbwertszeit bei Verabreichung therapeutischer Dosen von IP am Menschen infolge der niedrigen Konzentrationen im Plasma sehr schwierig ist, findet sich in der Literatur nur eine einzige Angabe bei Wilbrandt [87], nach der sie für IP beim Menschen 3,5 h beträgt.

Mehrere Stoffwechselprodukte des IP wurden erstmals bei Untersuchungen am Menschen gefunden, so durch Im Obersteg et al. [55] in einem Fall von Suicid mit IP die Abbauprodukte IDB und 2-OH-IDB, von Fishman et al. [56] IPNO im Urin von Patienten, die mit IP behandelt wurden und von Crammer et al. [20] mindestens drei 10-Hydroxy-Metaboliten in Plasma und Urin von Patienten unter IP-Medikation.

In einer Bilanzstudie mit ¹⁴C-IP (markiert in der Äthylen-Brücke) wurde innerhalb von 6–7 Tagen die gesamte verabreichte Aktivität in Faeces und Urin wiedergefunden; das Ausscheidungsmuster ist demjenigen der Ratte sehr ähnlich [22]. Nach Untersuchungen von Bickel [7] findet sich bei chronischer Verabreichung von IP auch in bezug auf das Metabolitenmuster im Urin eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den beiden Arten. Ein weiterer Versuch am Menschen mit gleichartig markiertem IP bestätigt die rasche Ausscheidung dieser Substanz durch die Nieren, indem innerhalb 72 h ungefähr 70% der verabreichten Aktivität als unveränderte Muttersubstanz und Abbauprodukte mit dem Urin ausgeschieden wird. Davon sind ca. 15% unkonjugierte Iminodibenzyl-Derivate und 35% Glucuronide. Die restliche Aktivität war nicht extrahierbar und wurde auch nicht identifiziert [18].

Herrmann [54] beobachtete bei der papierchromatographischen Untersuchung von Patientenharn einen auffällig hohen Anteil von 2-OH-DMI, welches vermutlich eine Schlüsselstellung im Abbau einnimmt, da es aus DMI und 2-OH-IP entstehen kann. Interessant sind die vergleichenden Untersuchungen der Metabolitenmuster im Harn von Patienten, die Tofranil, Pertofran oder 2-OH-IP-Gaben erhielten. Nach Tofranil werden Muttersubstanz, DMI und 2-OH-DMI in größeren Mengen ausgeschieden, hingegen nur wenig 2-OH-IP und IPNO. Erhält der Patient Pertofran, so finden sich im Urin fast nur DMI und 2-OH-DMI. Bei 2-OH-IP-Medikation werden im Urin viel unveränderte Substanz und etwas 2-OH-DMI beobachtet [61]. Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß beim Menschen primär

*) Hersteller: J. R. Geigy A.G., Basel.

hauptsächlich demethyliert und erst sekundär hydroxyliert wird.

6. Zusammenfassende Darstellung des Metabolismus

Abb. 3 stellt die wichtigsten der aus der Literatur bekannten Abbauege von IP in vivo dar:

- getrennt nach Species: Maus, Ratte, Kaninchen, Mensch,
- unter Berücksichtigung von Species und Metabolisierungsweg.

Daraus ist nochmals klar zu ersehen, daß ein wesentlicher Unterschied in der Metabolisierungsrichtung besteht bei Mensch und Ratte einerseits, die IP stark demethylieren und accumulieren, gegenüber Maus und Kaninchen andererseits, die IP vorwiegend und rasch hydroxylieren und konjugieren.

7. Placentapassage von Imipramin

Cassano et al. [15] und Hansson et al. [48] behandelten gravide Mäuse 2–3 Tage vor Wurf parenteral mit ^{14}C -IP, das an einer endständigen Methylgruppe markiert war. Zu verschiedenen Zeiten nach Applikation wurden die Weibchen getötet und zu Sagittalschnitten verarbeitet. Die Autoradiographie dieser Präparate zeigt, daß die Aktivität nur langsam die placentare Schranke passiert und die Konzentrationen im Foetus niedriger bleiben als im Muttertier, dafür aber längere Verweildauer aufweisen. Die Organverteilung der Aktivität im Foeten entspricht ungefähr derjenigen im mütterlichen Organismus.

Bei der Ratte scheint im Vergleich zur Maus die placentare Diffusion von IP rascher und leichter vor sich zu gehen, denn Douglas et al. [31] fanden, daß im letzten Drittel der Trächtigkeit nach intramuskulärer Applikation von IP der Konzentrationsausgleich zwi-

schen mütterlichem Plasma und foetalem Gewebe sich schon 3 min nach Verabreichung der Substanz einstellt.

B) TOXIKOLOGIE DES IMIPRAMIN, DESMETHYL-IMIPRAMIN UND 2-HYDROXY-IMIPRAMIN

1. Akute Dosis letalis 50 (DL₅₀)

In Tab. 2 sind für IP, DMI und 2-OH-IP die in der Literatur publizierten Werte der akuten DL₅₀ (Maus, Ratte und Kaninchen; diverse Applikationswege) zusammengestellt und durch unveröffentlichte Resultate sowie eine kurze Beschreibung des Vergiftungsbildes ergänzt.

Tab. 2: Zusammenstellung der akuten DL₅₀ (mg/kg) von IP, DMI und 2-OH-IP aus Literatur und unveröffentlichten Untersuchungen. Das Vergiftungsbild nach akuter Intoxikation von Maus, Ratte und Kaninchen mit IP, DMI und 2-OH-IP umfaßt folgende Symptome: Muskelschwäche und -zuckungen, Benommenheit, Atemstörungen, Ataxie, Krämpfe tonisch-klonischen Charakters [82].

		IP	DMI	2-OH-IP
Maus	iv.	35*)	42*)	29**)
	ip.	115*)	97*)	
	sc.	189*)	214*)	
	p.os	666*)	935*)	733†)
Ratte	iv.	22*)	29*)	19†)
	ip.	79*)	55*)	
	sc.	250*)	250*)	
	p.os	625*)	375†)	2980†)
Kaninchen	iv.	18*)	12*)	12,5†)
	p.os	385†)	1000†)	

*) [82]; **) [83]; †) [88].

Ein Vergleich der Daten für die akute Intoxikation bei intravenöser (iv.) Verabreichung zeigt, daß sich die DL₅₀ innerhalb einer Species für alle Substanzen in der gleichen Größenordnung bewegt, während die Verträglichkeit für die verschiedenen Tierarten in der Reihenfolge Maus > Ratte > Kaninchen abnimmt.

Bei peroraler (p.os) Applikation von IP liegen die Werte bei Maus und Ratte nahe beieinander, während

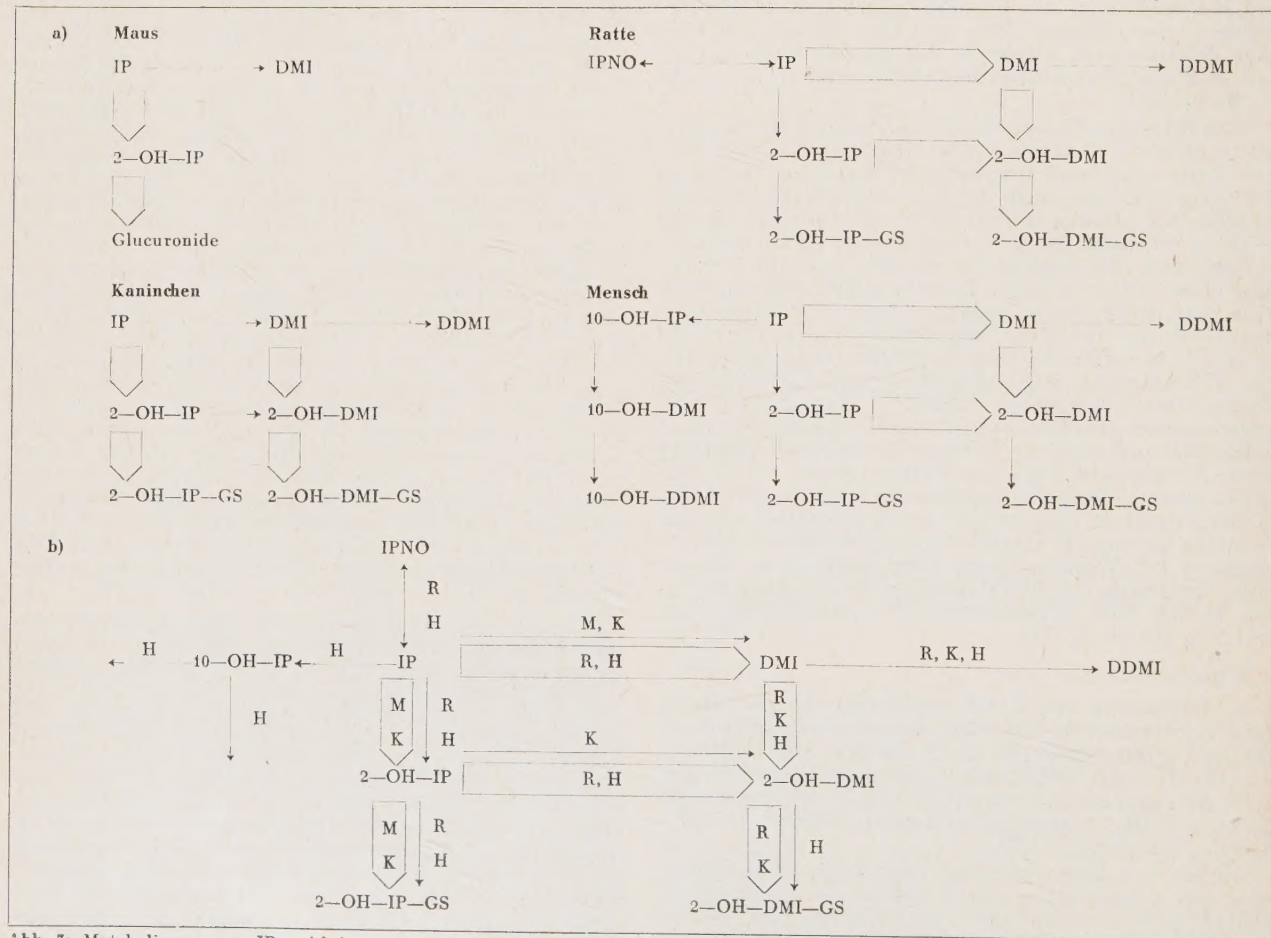


Abb. 3: Metabolismus von IP: wichtigste Abbauege in vivo, a) getrennt nach Species, b) unter Berücksichtigung von Species und Metabolisierungsweg (Eigene Zusammenstellung auf Grund von Literaturangaben). □> Hauptabbaueweg. M = Maus; R = Ratte; K = Kaninchen; H = Mensch.

das Kaninchen empfindlicher reagiert. DMI ist für Maus und Kaninchen weniger toxisch als für die Ratte. Für 2-OH-IP sind nur bei Maus und Ratte Daten vorhanden, wobei letztere Species diese Substanz wesentlich besser verträgt.

Die Daten der DL₅₀ nach intraperitonealer (ip.) und subcutaner (sc.) Gabe sind nicht vollständig, da sie einerseits nur für IP und DMI, andererseits nur bei Maus und Ratte vorliegen. Für beide Tierarten bewegen sich die Werte für DMI und IP in der gleichen Größenordnung, doch reagiert nach ip. Applikation die Ratte, nach sc. Verabreichung die Maus empfindlicher.

Das Vergiftungsbild ist für alle 3 Substanzen einheitlich und weist in hohen Dosen auf eine zentral erregende Wirkung hin.

2. Repetitierte Verabreichung und Spezialversuche am Tier

Die Tab. 3 und 4 stellen eine Zusammenfassung der in der Literatur veröffentlichten Resultate über Toxizitätsversuche mit IP und DMI an verschiedenen Species dar, vervollständigt durch einige unveröffentlichte Daten.

a) Ratte

In diesen Versuchen betrug die maximale Applikationsdauer 4 Wochen. Dabei findet sich das für repetitierte Verabreichung von Iminodibenzylen bekannte Vergiftungsbild: retardierte Gewichtsentwicklung, verminderter Futterkonsum und Symptome wie Benommenheit, Dyspnoe und Bauch-Seitenlage. Bei 28tägiger oraler Gabe an Ratten läßt sich unter Berücksichtigung aller Versuchs-kriterien (Exitusquote, Körpergewicht, Symptome und pathologisch-anatomische Beurteilung) die Verträglichkeit von IP, DMI und 2-OH-IP folgendermaßen einstufen: 2-OH-IP > IP > DMI. Die To-

Tab. 3: Literaturzusammenstellung über die Toxikologie von IP, DMI und 2-OH-IP (Ratte). Erläuterungen: *) Sonntag(e) ausgenommen. ✓ = Dosisabhängig retardierte Entwicklung bzw. Abnahme des Körpergewichtes. a = 3tägige Applikation (1× pro Tag), dann ca. 2 Wochen keine Verabreichung. Dieses Procedere wurde mehrmals (wie oft?) wiederholt. b = Mehrere Einzelapplikationen (wieviele?) im Abstand von 2-3 Tagen. Leer = Keine Angaben.

Substanz	Dosis mg/kg/Tag	Applikation		Tier- zahl	Exitus			Befunde		Lit.
		Technik	Dauer (Tage)		Anzahl	Zeit- punkt (Vers.- tag)	Kör- perge- wicht	Symptome	Sektion und Histologie	
IP	4 8 16 32	p.os	a	je 12					Dosisabhängige Vermin- derung des Futterkonsums	[67]
	3 ver- schiedene	ip.	b	je 8					Verminderung des Futterkonsums: DE ₅₀ =44 mg/kg	[78]
	0 10 20 40 60 80	sc.	11*)	40 je 20	0 0 0 1 0 1	— — — 14. — 14.	} ←	Dosisabhängig: Benommenheit, Bauch-Seitenlage, Dyspnoe	z. T. Abszeßbildung an Injektionsstellen	[80]
	60 80 100	p.os	11*)	je 40	4 7 21	4.—12. 4.—12. 3.—13.				
	0 50 75 150	p.os	28*)	je 10	0 0 1 9	— — 16. 2.—21.	} ←	150 mg/kg: Schlechter Allgemeinzustand	150 mg/kg: Bei spontan ad exitum gekommenen Tieren schwere Blutstauungen in Leber	
	DMI	0 12,5 25 50 100	p.os	28*)	je 10	0 0 0 0 9				— — — — 7.—25.
	2—OH—IP	0 150 250 500 1000	p.os	28*)	je 10	0 0 2 4 10	— — 6., 11. 2.—16. 1.— 3.	} ←	1000 mg/kg: Abgemagert, Benommenheit, Bauch- Seitenlage, Dyspnoe	0—500 mg/kg: o.B. 1000 mg/kg: Exitus infolge akuter Kreislaufinsuffizienz, schwere allgemeine Blut- stauung, Lungenoedem

desursache beruht bei allen untersuchten Verbindungen wahrscheinlich auf Kreislaufinsuffizienz.

Nach repetitierter sc. Applikation von IP tritt an den Injektionsstellen Irritation mit Abszessbildung auf.

b) Kaninchen

Bei 11tägiger sc. Applikation stellen bereits IP 10 mg/kg/Tag im Hinblick auf die Gewichtsentwicklung der Tiere einen beginnenden „effect level“ dar. Die Substanz wird unter den gleichen Versuchsbedingungen p.os weit besser vertragen, da erst 100 mg/kg/Tag die Entwicklung des Körpergewichtes beeinflussen. Das Vergiftungsbild entspricht infolge der teilweise hohen Dosierungen demjenigen nach akuter Intoxikation (siehe Tab. 2).

Die sc. Verabreichung von IP führt auch bei dieser Tierart zu dermalen Schädigungen.

c) Meerschweinchen, Kaninchen, Hund

Bei parenteraler Gabe relativ hoher Dosen von IP (beim Meerschweinchen auch DMI) kommt es zu einer Beeinflussung der Herz-tätigkeit, indem Störungen der Erregbarkeit und Reizleitung auftreten, die schließlich zu Herzstillstand infolge Blockbildung führen können.

In hohen Dosen führt IP bei parenteraler und oraler Verabreichung zu pathologisch-anatomischen Veränderungen einzelner Organe. Die Angaben der in Tab. 3 und 4 zusammengefaßten Arbeiten sind jedoch nicht ausreichend, um diesbezügliche Schlußfolgerungen ziehen zu können.

3. Nebenwirkungen und Intoxikationen beim Menschen

Die therapeutische Dosis von Tofranil beträgt je nach Fall 25—350 mg/Tag. An Nebenwirkungen werden beobachtet: Mundtrockenheit, Tachycardie, Obstipation, Schweißausbruch, Schwindelgefühl, Kopfdruck und Kopfschmerzen, Parästhesien, Accomodationsbeschwer-

den, Engegefühl im Hals, Schluckbeschwerden, Brennen der Zunge, des Rachens und des Oesophagus, Neigung zu Kollaps sowie leichtere Veränderungen des EKG (zusammengestellt bei [17, 60]). Ein Großteil dieser Nebenwirkungen ist im Sinne eines pharmakodynamischen Effektes zu interpretieren.

Akute Intoxikationen mit Tofranil oder Pertofran treten bei Dosen über 8 mg/kg Körpergewicht ein [65]. Das Vergiftungsbild, welches allen Thymoleptica gemeinsam ist, umfaßt folgende Symptome [17, 65, 69]:

a) nervöse Übererregbarkeit, Erregungszustände, Opisthotonus, klonisch-tonische Konvulsionen, Status epilepticus;

b) Sedation, Hypnose, Pupillenstarre, Koma;

c) Störungen der Herzrhythmickeit, hauptsächlich supra-

Tab. 4: Literaturzusammenstellung über die Toxikologie von IP und DMI (Meerschweinchen, Kaninchen, Hund). Erläuterungen: *) Sonntag ausgenommen. **) Die Dosen wurden aus Angaben des Autors auf mg/kg umgerechnet. ↙ Dosisabhängig retardierte Entwicklung bzw. Abnahme des Körpergewichtes. a = 5 Applikationen im Abstand von 1 Woche. Leer = Keine Angaben.

Spezies	Substanz	Dosis mg/kg/Tag	Applikation		Tier- zahl	Exitus		Kör- perge- wicht	Befunde			Lit.
			Technik	Dauer (Tage)		An- zahl	Zeitpunkt		Symptome	Herztätigkeit	Sektion und Histologie	
Meer- schwein- chen	IP		Infusion	1×						Exitus infolge Herzstillstand nach Verlust der Erreg- barkeit		[12]
		ca. 26—55**)	Infusion	1×	5					Repolari- sations- und Reizleitungs- störungen		
		0 10 20 30 40	im.	30	4 je 5	0					30 und 40 mg/kg: Hyper- aemie, Schä- digungen degenerativer Art und vas- culäre Kon- gestion in Hirn, Leber, Niere.	[42]
	DMI		Infusion	1×						Exitus infolge Herzstillstand nach Verlust der Erreg- barkeit		[12]
		ca. 15—44**)	Infusion	1×	5					Repolari- sations- und Reizleitungs- störungen		
Kanin- chen	IP	steigend 25—625**)	p.os jeden 2. Tag		3	3	nach 625 mg/kg				Hyperaemie, Oedeme und Haemor- rhagien	
		steigend 67—666	jeden 2. Tag		3	3	nach 533, 600 bzw. 666 mg/kg		Dosis- abhängig: Anorexie Ataxie klonisch- tonische Krämpfe		ausgeprägt: Hirn, Leber, Nieren	[16]
		625		1×	3	3					schwächer: Lunge, Herz, Milz, Magen	
		ca. 100**)	ip. oder im.	a	7	2 2 1	nach 1. Appl. nach 2. Appl. nach 3. Appl.		Muskelzit- tern, Krämpfe, Atembe- schleunigung, neuro- muskuläre Störungen	Unterschied- liche Kontrak- tilität, Modi- fikation der Erregbarkeit, Reizleitungs- störungen, Block, Anoxie → Herzstill- stand		[37]
		0 10 20 30 40 60	sc.	11*)	12 6 12 6 12 6	0 0 0 1 4 5	— — — 10. Tag 3.—8. Tag 1.—12. Tag	↙	Dosis- abhängig: Benommen- heit Bauch- Seitenlage Dyspnoe klonisch- tonische Krämpfe Ataxie		z. T. Abszeß- bildung an Injektions- stellen. Bei den spon- tan ad exitum gekommenen Tieren der 60 mg/kg- Gruppe Stauung bis starke Blut- überfüllung der Organe	[80, 88]
		60 80 100	p.os	11*)	3 6 11	0 0 0	— — —	↙	o. B.			
Hund	IP		Infusion	1×						Versagen der inotropen Funktionen des Myocard		[33]

ventrikuläre Tachycardie; EKG-Veränderungen wie Reizleitungsstörungen, alle Formen des Blocks;

d) Blutdruckabfall, Atemstörungen und Apnoe;

e) Folgeerscheinungen: pulmonale Insuffizienz, Cyanose, Lungenödem, Herzstillstand.
Der Symptomenkomplex nach akuter Intoxikation mit Iminodibenzyl-Derivaten bei Mensch und Tier stimmt weitgehend überein, da in jedem Falle eine zentral-erregende Wirkung, sowie eine Beeinflussung von Herz- und Kreislauffunktion beobachtet werden.

C) REPRODUKTIONSTOXIKOLOGIE DES IMIPRAMIN

Aus den publizierten Daten über die Wirkung von IP auf die Reproduktion von Labortieren (Tab. 5) läßt sich für die einzelnen Species folgendes herauslesen:

Aus den publizierten Daten über die Wirkung von IP auf die Reproduktion von Labortieren (Tab. 5) läßt sich für die einzelnen Species folgendes herauslesen:

Tab. 5: Literaturzusammenstellung über den Einfluß von IP auf die Reproduktion. Erläuterungen: *) = Beide Elterntiere 60 Tage vor Paarung bis Absäugen des 2. Wurfs, Leer = keine Angaben.

Species	Stamm bzw. Rasse	Tech- nik	Dosis mg/kg Tag	Appl- dauer Tage p.c.	An- zahl Wurf	Foeten bzw. Junge nach Wurf lebend tot	Junge lebend am 21. Tag p.p.	Resorp- tionen	Im- plan- tationen	Mittleres Gewicht der Foeten bzw. Jungen in g	Anzahl Foeten bzw. Junge mit Befund	Befund	Verträglichkeit für Muttertier	Lit.
Maus	Closed outbred	p.os	0	6.—17.	32	9,2		1,1	10,3	0,93	1/293	Exencephalie	Keine systemische Toxizität, dosisabhängige Ulceration und Abszessbildung an Injek- tionsstellen	[50]
		25	50		13	9,2		1,2	10,4	0,87	0			
		100	100		15	8,1		1,7	9,8	0,73	0			
	sc.		150		12	9,5		1,3	10,8	0,94	0	Zwergwuchs		
Maus			0	6.—17.	16	8,2		1,4	9,6	0,92	1/131	Exencephalie	Keine systemische Toxizität, dosisabhängige Ulceration und Abszessbildung an Injek- tionsstellen	[50]
			10		40	7,8		1,8	9,6	1,1	0			
			20		20	7,2		2,4	9,6	1,0	1/144			
			20		20	8,3		2,0	10,3	1,0	0	Palatoschisis		
Maus			40	6.—17.	20	7,8		2,7	10,5	1,0	1/156		Nicht toxisch (?)	[71, 73]
	?	?	1/10		?							Verhinderung der Implantation		
	?	?	?		?							Mißbildungen		
	?	?	?		?									
Ratte	Sorague Dawley	im Futter	0	*)	1. 50/60	9,1	5,6			am 21. Tag p.p.	0		Wahrscheinlich spezifisch negative Wirkung auf Aufzuchtseintritt	[50]
			5		2. 34/55	9,5	5,4			♂ 50 ♀ 46	0			
			15		1. 12/20	7,9	1,0			52 49	0			
			15		2. 13/19	7,9	0,5			48 57	0			
Ratte			15	*)	1. 17/20	6,6	1,1			51 41	0		Ab 50 mg/kg/Tag toxisch: retardierte Gewichtsentwick- lung, Benommenheit, Bauch- seitenlage, 2/21 bzw. 15/21 Exitus	[80]
			100		2. 10/18	8,3	2,1			43 39	0			
			100							44 46	0			
			100											
Ratte	Wistar	sc.	0	1.—16.	41	9,7	0,1	0,2	10,0	4,9	1/402	Rippen wellenförmig verformt	10 mg/kg/Tag toxisch: retar- dierte Gewichtsentwicklung	[56]
			20		17	6,9	0,1	0,4	7,4	5,1	1/119	Kontraktur der rechten Hinterextremität		
			20		11	5,4	0,6	0,2	6,2	4,7	0	Kypnose im Thoracal- und Lumbalbereich; Rippen wellenförmig verformt (alle Tiere aus 1. Wurf)		
			50		19	9,7	0,4	1,1	11,2	3,9	3/192			
Ratte	Wistar	p.os	0	2.—19.	6	6,3	0	4,8	11,1	3,3	0		Nicht toxisch (?)	[71, 72, 73]
			10		132	9,5	0	0,7	10,2	3,1	0			
					30	9,4	0	1,2	10,6	3,1	0			
Kaninchen	Versch. Rassen	sc.	ca. 15 (5—30)	0.—15. 0.—17. 0.—20.	10	?		erhöht			7/?	1 Foet: Encephalocoele; 1 Foet: einseitig Arthro- gryposis und Supination, Hyperextension einer Vor- derextremität, Peritonealhöhle und Magen mit Blut gefüllt; 1 Foet: „cranial swelling“, subcutane Haemorrhagie, Spina bifida occulta, Palatum fehlt; 4 Foeten: „cranial swelling“, abnorme Haltung der Extremitäten, Haemorrhagien.	30 mg/kg/Tag sc. toxisch: Ulceration und Abszessbil- dung an Injektionsstellen; Gewichtsverlust; 2 Tiere: Krämpfe und Exitus; 4/8 Muttertieren mit vollständi- ger Resorption aller Keim- linge	[50]
			15		1									
			25		6									
			30		5									
Kaninchen	Weisse Dänen	sc.	0	3.—20. 3.—18. 3.—20.	5/6	4,8	0	1,6	6,4	4,5	0	Schwanz stark verkürzt	30 mg/kg/Tag sc. toxisch: Ulceration und Abszessbil- dung an Injektionsstellen; Gewichtsverlust; 2 Tiere: Krämpfe und Exitus; 4/8 Muttertieren mit vollständi- ger Resorption aller Keim- linge	[63]
			15		4/4	7,8	0	0	7,8	3,3	0			
			25		4/6	5,5	0	1,0	6,5	4,4	1/22			
Kaninchen	Weisse Neusee- länder	p.os	0	6.—16.	16/23	7,7		1,0	8,7	4,9	1/108	Einseitig Arthrogryposis	30 mg/kg/Tag sc. toxisch: Ulceration und Abszessbil- dung an Injektionsstellen; Gewichtsverlust; 2 Tiere: Krämpfe und Exitus; 4/8 Muttertieren mit vollständi- ger Resorption aller Keim- linge	[50]
			5		7/11	5,9		2,0	7,9	5,5	0			
			15		6/11	7,7		0,8	8,5	4,7	1/46	Einseitig ectopische Niere		
	sc.		5		10/12	6,9		0,6	7,5	4,1	0			
Kaninchen			15	6.—16.	10/12	5,3		1,3	6,7	3,8	0		1 Foet: Hydrocephalus, doppelte Cheilopalatoschisis; 1 Foet: Hydrocephalus; 1 Foet: Craniorachischisis; 1 Foet: Aplasie der linken Niere	[50]
			15		11/12	4,2		3,0	7,2	4,0	0			
			30		8/12	3,6		5,8	9,5	3,5	4/29			

Species	Stamm bzw. Rasse	Technik	Dosis mg/kg/Tag	Appl.-dauer Tage p.c.	Wurf p.c.	Anzahl gravide ♀	Foeten bzw. Wurf nach lebend	Junge lebend 21. Tag p.p.	Resorptionen	Implantationen	Mittleres Gewicht der Foeten bzw. Jungen in g	Anzahl Foeten bzw. Junge mit Befund	Befund	Verträglichkeit für Muttertier	Lit.
Kaninchen	Weisse Neuseeländer	p.os	0 25 50	{ 3.-15.	{ 3.-15.	26 5 5	6,1 7,8 9,4	0,5 1,0 0,6	1,2 0 0	7,6 8,8 10,0	37 41	0 0 0		Nicht toxisch	[80]
	Gelbsilber	p.os	0 50			11/12 15/20	7,3 7,9	0 0	0,7 0,4	8,0 8,5	34 34	0 2/148	1/118 Leichte Ossifikationsstörung an Os parietale; 1/118 Vorderextremitäten: beidseitig Anthrogy- posis und Reduktion des 1. Strahles		[88]

1. Maus

Wird IP während der Organogenese p.os verabreicht, so hat auch die hohe Dosis von 150 mg/kg/Tag weder auf Muttertier noch auf Keimling einen nachteiligen Einfluß. Diese Applikation während der gleichen Zeitspanne führt bei 40 mg/kg/Tag zu einer Erhöhung der Resorptionsquote, und die Muttertiere weisen Abszeßbildung sowie Ulceration an den Injektionsstellen auf. Während Harper et al. [50] gegenüber der Kontrolle keine Zunahme von abnormen Foeten nach Behandlung der Muttertiere mit IP beobachteten, berichtet Robson [72], Mißbildungen gesehen zu haben, jedoch ohne Zahl und Art zu präzisieren. Auch sein Bericht, wonach IP in nicht toxischen Dosen bei der Maus zu einer Hemmung der Implantation führen soll, steht bis jetzt vereinzelt da [71].

2. Ratte

Im Vergleich zu der Maus wirken bei der Ratte schon wesentlich niedrigere Dosen von IP für das gravide Tier toxisch. Jelinek et al. [56] beobachteten bei Behandlung mit IP 10 mg/kg/Tag p.os vom 2.-19. Tag post conceptionem (p.c.) eine Retardierung der mütterlichen Gewichtsentwicklung gegenüber den Kontrollen. Parallel dazu traten auch vermehrt Resorptionen auf. Stenger et al. [80] taxierten 50 mg/kg/Tag p.os, vom 1.-16. Tag p.c. verabreicht, als toxisch für Muttertier und Keimlinge, da bei dieser Dosis 2 von 15 graviden Weibchen ad exitum kamen, Symptome beobachtet wurden, die Zahl der toten Früchte anstieg und eine Verminderung des Foetengewichtes eintrat. Doch ist IP auch für die Ratte, selbst in toxischen Dosen, nicht teratogen, da kein systematischer oder signifikanter Anstieg an Foeten mit Befund eintrat.

3. Kaninchen

IP wird bei oraler Applikation vom graviden Kaninchen gut vertragen. Die Dosis 50 mg/kg/Tag (vom 3.-15. Tag p.c.) am weißen Neuseeländer-Kaninchen bezeichnen Stenger et al. [80] als „nicht toxisch“; nach 50 mg/kg/Tag trat bei Tieren der Rasse Gelbsilber, im Vergleich zur Kontrollserie, lediglich eine leichte Retardierung der Gewichtsentwicklung während der Verabreichungsdauer auf [88]. Dieser Applikationsmodus von IP führt beim Kaninchen auch zu keiner Fruchtschädigung, da nur wenige und relativ leichte Befunde beobachtet wurden.

Anders ist die Situation nach sc. Verabreichung von IP. Nach Harper et al. [50] wirken 30 mg/kg/Tag für die Muttertiere stark toxisch; es treten kontinuierlicher Gewichtsverlust, Ulceration und Abszeßbildung an den Injektionsstellen sowie Symptome und Exitus auf. Schon bei der Dosis 5 mg/kg/Tag werden gegenüber den Kontrollwerten vermehrt Resorptionen beobachtet, doch finden sich erst bei 30 mg/kg/Tag mißgebildete Foeten. Diese Befunde bestätigen in gewissen Hinsichten die Daten von Robson et al. [71, 72, 73], nach denen beim Kaninchen bei sc. Applikation von IP in Dosen zwischen 5 und 30 mg/kg/Tag Mißbildungen auftreten. Leider lassen die wenigen Angaben letztgenannter Autoren die sicher vorhandene Korrelation zwischen mütterlicher und foetaler Toxizität nicht nachweisen.

4. Mensch

Unter den klinischen Beobachtungen finden sich bis 1964 3 Fälle von Mißbildungen, in welchen Tofranil allein oder zusammen mit anderen Medikamenten während der kritischen Phase der Embryonalentwicklung verabreicht wurde. Statistische Berechnungen erlauben es, die berichteten Anomalien als reine Koinzidenz mit der IP-Behandlung zu erklären [66]. Da in der Zwischenzeit keine weiteren Berichte über ein Auftreten von Anomalien im Zusammenhang mit Tofranil publiziert wurden, besteht kein Anlaß, dieses Pharmakon als teratogen für den Menschen zu bezeichnen.

D) SCHLUSSFOLGERUNGEN AUS DEN LITERATURANGABEN FÜR EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR ABKLÄRUNG EINER EVENTUELLEN TERATOGENEN WIRKUNG DES IMIPRAMIN

α) In bezug auf den Metabolismus des IP steht die Ratte dem Menschen am nächsten. Da sich je länger je mehr die berechtigte Ansicht durchsetzt, daß tierexperimentelle Untersuchungen toxikologischer und teratologischer Art an denjenigen Species durchzuführen seien, deren Stoffwechsel dem des Menschen am meisten ähnlich ist [62, 64, 68], bietet sich im Falle des IP die Ratte als geeignetste Tierart an. Zusammen mit Maus und Kaninchen weist sie auch einen sehr ähnlichen Typ von Placenta auf wie der Mensch, nämlich eine Placenta haemochorialis-discoidalis [45, 79]. Im weiteren ist bekannt, daß IP bei dieser Species rasch durch die Placentaschranke diffundiert und den Foeten erreicht [31].

β) Obwohl der Stoffwechsel des IP beim Kaninchen in quantitativer und z. T. auch qualitativer Hinsicht anders verläuft als beim Menschen, kommt dieser Species ein Interesse für Untersuchungen auf dem Gebiet der Teratologie zu. Denn lediglich bei dieser Tierart wurden bisher nach sc. Injektion Mißbildungen beobachtet [50, 71, 72, 73]. Doch die zur Provokation der Anomalien notwendigen Dosen von IP waren relativ hoch, und es scheint eine Korrelation zwischen mütterlicher und embryonaler Toxizität zu bestehen [50]. Eventuell spielt in der Genese dieser Mißbildungen beim Kaninchen auch der zu Mensch und Ratte divergente Metabolismus von IP eine wichtige Rolle.

γ) Über den Abbau von IP bei der Maus liegen relativ wenig Daten vor. Im teratologischen Experiment läßt sich weder nach oraler noch sc. Applikation ziemlich hoher Dosen von IP eine teratogene Wirkung erkennen [50]. Aus diesen Gründen sind weitere reproduktionstoxikologische Untersuchungen an der Maus ohne Wert.

δ) DMI und 2-OH-IP kommt für teratologische Versuche — besonders am Kaninchen — einiges Interesse zu, da sie die Hauptabbauprodukte von IP auf zwei qualitativ verschiedenen Metabolisierungswegen sind: DMI wird bei Mensch und Ratte in größeren Mengen gebildet, während das Kaninchen vorwiegend 2-OH-IP produziert.

Auf Grund dieser Überlegungen wurde folgendes Versuchsprogramm aufgestellt:

1. Ratte

Zunächst wurden unter identischen Versuchsbedingungen mit IP Verträglichkeitsprüfungen an nicht graviden Weibchen mit Dosen zwischen 5 und 100 mg/kg/Tag p.os und sc. durchgeführt. Der einzige Unterschied zwischen den beiden Serien bestand darin, daß den Tieren p.os zehn Gaben verabreicht wurden, während die Weibchen der parenteralen Serie nur fünf Injektionen erhielten. Aus den Daten der akuten DL₅₀ (Tab. 2) und der subchronischen Versuche (Tab. 3) ist bekannt, daß die Ratte auf sc. Applikation wesentlich empfindlicher reagiert als auf orale Verabreichung (ungefähr Faktor 2) und daß nach repetitiver Applikation Abszeßbildung an den Injektionsstellen auftritt. Um die Tiere

durch diese lokale Irritation nicht allzusehr zu schädigen, wurden nur 5 Injektionen über den Rücken verteilt. Dadurch erhielten die Weibchen der entsprechenden Dosisgruppen bei oraler Applikation total die doppelte Menge an Wirksubstanz verglichen mit derjenigen der sc. Serien.

Anschließend wurden an graviden Ratten analoge Versuche mit gleicher Dosierung und Verabreichungsdauer durchgeführt. Letztere erstreckte sich bei oraler Gabe vom 7.—16. und bei sc. Injektion vom 8.—12. Tag p.c.. Beide Applikationsintervalle umfassen also die für Teratogene empfindliche Phase der Organogenese [14, 46, 59]. Von besonderem Interesse waren die Studien mit sc. Verabreichung im Vergleich zum Kaninchen, da bei letzterem nach dieser Applikationstechnik Mißbildungen auftraten.

Um eine Maskierung eventueller Mißbildungen in Folge eingetretener Resorption aufzudecken, erhielten in weiteren Serien gravide Weibchen zwischen dem 7. und 16. sowie 8. und 12. Tag p.c. Einzelapplikationen einer für das Muttertier toxischen Dosis p.os bzw. sc.

Da aus biochemischen Gründen die Reaktion der graviden Ratte auf Verabreichung von DMI und 2-OH-IP

Tab. 6: Methodische Angaben.

Tier- material	Species	Ratte (<i>Rattus norvegicus</i>)			Kaninchen (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)			
	Stamm/Rasse Herkunft Gewicht der virginellen Weibchen zu Versuchsbeginn	Wistar, CF-Mehrzweck (konventionell) Versuchstier-Zucht Voss, Duttlingen (BRD) 130—300 g			Gelbsilber (konventionell) Handelsware 1,5—3,3 kg			
Tierhaltung	Tierfutter: Nafag-Futterwürfel Nr.	185			84			
	Wasser	ad libitum						
	Lichtstunden pro Tag	Tageslicht			14			
	Raumtemperatur (°C)	23 ± 2			21 ± 2			
	relative Luftfeuchtigkeit (%)				55 ± 5			
	Käfig	Plexiglas 28 × 21 × 22 cm			Eisen feuerverzinkt 60 × 40 × 30 cm			
	Tierzahl pro Käfig	5			1			
	Gewichtskontrolle				täglich			
Reproduktion	Tiere getötet mittels	Chloroform-Inhalation			Kurzsnarkotikum G 29 505 iv.			
	Paarungsmodus ♂ : ♀	1 : 2			1 : 1			
	Kriterium für 1. Tag p.c.	Spermien im Vaginalabstrich			Tag nach beobachtetem Deckakt			
	Muttertier: Sektion am . . Tag p.c.	22. bzw. nach Exitus			29. bzw. nach Exitus			
	Auswertung*): Erfassung von Abort**)	+			+			
	Foeten: äußere Inspektion	+			+			
	Autopsie	—			+			
	Alizarinrot- Färbung†)	+			+			
Applikation	Technik	p.os (Schlundsonde)			sc. (Rückenhaut)			
	Lösungsmittel	Aqua dest. mit Gummi arabicum			Aqua dest.			
	Volumen (ml/kg)††)	10			5			
	Nicht gravide Weibchen:							
	Dauer (Tage)	10			5			
	Frequenz	1×/Tag; 7×/Woche			1×/Tag			
	Substanz	IP			IP			
	Dosen (mg/kg/Tag)	5—100			5—100			
	Gravide Weibchen:							
	a) durchgehende Applikation							
	Dauer (Tage p.c.)	7.—16.			8.—12.			
	Frequenz	1×/Tag; 7×/Woche			1×/Tag			
	Substanzen	IP	DMI	2-OH-IP	IP	DMI	2-OH-IP	TH
	Dosen (mg/kg/Tag)	5—100	50	200	5—100	40	60	15—150
	b) Einzelapplikationen							
	Zeitpunkt (Tag p.c.)	zwischen 7. u. 16.			zwischen 8. u. 12.			
	Substanz	IP			IP			
	Dosis mg/kg	100			100			

*) + = durchgeführt; — = nicht durchgeführt.

**) Die Uteri der bei Sektion am Versuchsende nicht graviden Tiere wurden zum Nachweis eines eventuellen Abortes mit Ammoniumsulfid behandelt; das an einer Implantationsstelle angehäufte Eisen fällt als schwarzes Eisensulfid aus. Dieses Verfahren stellt die erste Phase der Technik von Salewski [76] dar.

†) Nach Dawson [23].

††) Die jeweilige Kontrollgruppe erhielt das gleiche Volumen Leitungswasser bzw. aqua dest.

zu prüfen angezeigt erschien, wurden diese Substanzen bei repetierter Applikation in je 1 Dosis p.os und sc. geprüft (7.—16. bzw. 8.—12. Tag p.c.).

2. Kaninchen

Beim Kaninchen sind vor allem Toxikologie und Teratologie bei sc. Verabreichung des IP von Interesse, da bei diesem Applikationsmodus Mißbildungen auftreten [50, 71, 72, 73], während nach oraler Gabe von relativ hohen Dosen (30 und 50 mg/kg/Tag) keine Anzeichen einer Fruchtschädigung eintraten [80, 88]. Zur Toxikologie des IP am Kaninchen sei auf die Untersuchungen von Stenger et al. [80] verwiesen; eigene Versuche wurden nicht durchgeführt.

Es ist bekannt, daß biologische Reaktionen je nach Stamm oder Rasse des Versuchstieres different ausfallen können. Aus diesem Grunde schien es notwendig, die von Harper et al. [50] an weißen Neuseeländer-Kaninchen nach sc. Injektion von IP gefundene Korrelation zwischen mütterlicher und embryonaler Toxizität auch bei der in der vorliegenden Arbeit benutzten Gelbsilberrasse zu verifizieren. Für die Applikation wurde (in Analogie zur Ratte) die Spanne zwischen 7. und 16. Tag p.c. gewählt. Sie umfaßt den Zeitraum von Nidation und Beginn der Organogenese bis zur histologischen Differenzierung der Organe und beinhaltet die kritischen Stadien der Embryogenese [45, 44].

Unter identischen Versuchsbedingungen wurden auch die beiden Metaboliten DMI und 2-OH-IP am Kaninchen sc. geprüft.

Gemäß Literaturangaben ist die Empfindlichkeit der verschiedenen Kaninchen-Rassen auf N-Phthalylglutaminsäureimid (Thalidomid; TH) sehr unterschiedlich (zusammengestellt bei [51]). Da über die Gelbsilber-Kaninchen in dieser Hinsicht noch keine Daten vorliegen, wurden verschiedene Dosen dieses Teratogens bei oraler Applikation untersucht.

Tab. 8: IP: Verträglichkeit, nicht gravide Ratte. Perorale Applikation während 10 Tagen.

Imipramin mg/kg/Tag p.os	Mittleres Tiergewicht in g				Exitusquote		Symptome										
	A		B		%	Versuchs- tag											
	Anzahl ♀	Versuchs- beginn	während Applikation	Δ B-A			schlaf	verkrustetes, blutiges Augen- u. Nasensekret	aggressiv	benommen	Ataxie	Krämpfe; klonisch-tonisch	Allotriophagie	geblähtes Abdomen	Dyspnoe	Bauch-Seitenlage	Speichelfluß
0	30	198	208	+10	0	—											
5	20	202	205	+ 1	0	—											
10	20	198	204	+ 6	0	—											
20	20	203	198	- 5	0	—	+	(+)									
40	20	197	187	-10	5	5.	+	(+)	+								
60	20	197	185	-12	5	3.	+	+	+	+		(+)	(+)	(+)			
80	20	202	185	-17	10	8., 11.	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+
100	20	195	179	-16	25	2×3., 6., 2×7.	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+

(+) = einzelne Tiere; + = praktisch alle Tiere.

Tab. 9: IP: Verträglichkeit, nicht gravide Ratte. Subcutane Applikation während 5 Tagen.

Imipramin mg/kg/Tag sc.	Mittleres Tiergewicht in g				Exitusquote		Symptome													
	Anzahl ♀	A	B	Δ B-A	%	Versuchs- tag	lok. Irritation an Injektionsstellen	schlief	verkrustetes, blutiges Augen- u. Nasensekret	aggressiv	benommen	Ataxie	Hypothermie	Diarrhoe	Krämpfe; klonisch-tonisch	Allotriophagie	geblähtes Abdomen	Dyspnoe	Bauch-Seitenlage	Speichelfluss
		Versuchs- beginn	während Applikation																	
0	30	196	202	+ 6	0	—														
5	20	203	205	+ 2	0	—	(+)													
10	20	198	196	— 2	0	—	+													
20	20	201	197	— 4	0	—	+	+	(+)											
40	20	198	188	—10	5	5.	+	+	+	+										
60	20	198	186	—12	5	2.	+	+	+	+	+		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)			
80	20	198	181	—17	20	3×2., 3.	+	+	+	+	+		+	+	+	(+)	(+)			
100	20	198	181	—17	40	2×2., 2×3., 3×4., 5.	+	+	+	+	+		+	+	+	(+)	(+)	+	+	+

(+) = einzelne Tiere; + = praktisch alle Tiere.

(+) = einzelne Tiere; + = praktisch alle Tiere.

II. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A) METHODIK

Die methodischen Angaben für alle Versuche sind in Tab. 6 zusammengestellt.

Da die Gewichtsentwicklung des Tieres einen guten Indikator für eine Schädigung darstellt, wurde täglich eine Gewichtskontrolle durchgeführt und das anfallende Zahlenmaterial rechnerisch ausgewertet (Tab. 7).

Tab. 7: Errechnungsmodus für mittleres Tiergewicht.

Species	Tier- material	Appl.- Technik	Mittleres Tiergewicht in g bzw. kg errechnet aus allen Wägungen		
			vor Appl. (= A)	während Appl. (= B)	nach Appl. (= C)
Ratte	nicht gravide ♀	p.os	1. Ver- suchs- tag	2.—11. Versuchstag (= 10 Appl.)	—
		sc.		2.—6. Versuchstag (= 5 Appl.)	
	gravide ♀	p.os	1.—7. Tag p.c.	8.—17. Tag p.c. (= 10 Appl.)	18.—22. Tag p.c.
		sc.	1.—8. Tag p.c.	9.—13. Tag p.c. (= 5 Appl.)	14.—22. Tag p.c.
Kanin- chen	gravide ♀	p.os	1.—7. Tag p.c.	8.—17. Tag p.c. (= 10 Appl.)	18.—29. Tag p.c.
		sc.			

Von einigen Versuchs-kriterien ließen sich die Regressionsgeraden errechnen und graphisch darstellen.

B) RESULTATE

1. Ratte

Wenn bei der Ratte die Ergebnisse in den entsprechenden Dosisgruppen nach repetierter oraler und sc. Verabreichung einander gegenübergestellt werden, so ist zu berücksichtigen, daß die Weibchen der p.os-Serien 10 Applikationen, bei sc. Verabreichung 5 Injektionen erhielten.

1.1. Verträglichkeit repetierter Applikationen von Imipramin (IP) für nicht gravide Weibchen

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tab. 8 und 9 zusammengestellt. Abb. 4 zeigt die Regressionsgeraden für mittleres Tiergewicht und Exitusquote.

Im Vergleich zu den Kontrollen führt die orale und sc. Verabreichung von IP zu einer dosisabhängigen Retardierung der Gewichtsentwicklung bzw. Abnahme des Körpergewichtes, wobei zwischen den beiden Applikationsmodi kein Unterschied festzustellen ist (Abb. 4). Die Dosen 5 und 10 mg/kg/Tag p.os bzw. 5 mg/kg/Tag sc. lassen sich im Hinblick auf die Beeinflussung des Körpergewichtes als beginnenden „effect level“ einstufen.

Auch in bezug auf die Symptome besteht fast kein Unterschied zwischen oraler und sc. Verabreichung. In beiden Serien treten sie bei 20 mg/kg/Tag erstmals auf.

Tab. 10: IP, DMI und 2-OH-IP: Verträglichkeit, gravide Ratte. Perorale Applikation vom 7.—16. Tag p.c.

Bereits nach IP 5 mg/kg/Tag sind bei sc. Injektion Anzeichen einer lokalen Irritation in Form von Hautverdickungen zu beobachten. Diese Unverträglichkeitserscheinungen nehmen dosisabhängig schwerere Formen an und führen über nekrotische Abszeßbildung zu großflächigen Laesionen.

Die Exitusquote ist ab 40 mg/kg dosisabhängig erhöht, bei sc. Injektion nimmt sie rascher zu als bei oraler Applikation (siehe Abb. 4).

1.2. Verträglichkeit repetierter Applikationen von Imipramin (IP), Desmethy-imipramin (DMI) und 2-Hydroxy-imipramin (2-OH-IP) für gravide Weibchen

Die Resultate der repetierten Applikation p.os bzw. sc. von IP, DMI und 2-OH-IP an gravide Ratten sind in Tab. 10—15 zusammengefaßt. Abb. 5 und 6 stellen die

Substanz	mg/kg/Tag p.os	Anzahl ♀	Gewichtsentwicklung Mittleres Tiergewicht in gf)						Exitusquote				Reproduktion								
			A		B		C				%				% gravide ♀ mit		Anzahl pro Muttertier				mittleres Foeten- gewicht in g
			vor Appl.	während Appl.	nach Appl.	Δ B-A	Δ C-A	während Appl.	nach Appl.	Tag p.c.	Deckferfolg in %	lebenden Foeten am 22. Tag p.c.	vollständiger Resorption	Abort	lebende Foeten	tote Keimlinge	Implantationen	% Foeten mit Befunden			
IP	0	100	212	242	291	+30	+79	0	0	—	83	100	0	0	9,9	0,5	10,4	1	4,98		
	5	18	220	249	293	+29	+73	0	0	—	90	100	0	0	10,4	1,2	11,6	1	4,95		
	10	17	215	235	282	+20	+67	0	0	—	85	100	0	0	8,7*)	1,8	10,5	1	4,76		
	20	17	228	241	288	+13	+60	0	0	—	85	100	0	0	10,1	0,8	10,9	1	4,64		
	40	20	215	224	262	+9	+47	0	0	—	100	100	0	0	9,7	0,5	10,2	1	4,54		
	60	18	215	213	240	—2	+25	0	0	—	90	94	0	6	8,2*)	2,0	10,2	0	4,09**)		
	80	18	214	214	219	0	+5	11	6	15., 16., 18.	90	61	11	11	6,9**)	4,4	11,5	5	3,31**)		
	100	16	216	206	216	—10	0	13	31	13., 16., 2×17., 2×18., 21.	80	25	6	25	8,0*)	3,8	11,8	34	2,99**)		
DMI	50	16	231	221	226	—10	—5	13	6	11., 15., 20.	80	62	0	19	8,0*)	0,9	8,9*)	20	3,72*)		
2-OH-IP	200	15	216	241	293	+25	+77	0	0	—	75	93	0	7	9,8	0,4	10,2	4	5,01		

†) = Es wurden nur die Weibchen mit lebenden Foeten am 22. Tag p.c. berücksichtigt. □ = Wert gegenüber Kontrolle > 50% erhöht.
%) Abnahme gegenüber Kontrollgruppe: *) = 10–25%. **) = 26–40%.

†) = Es wurden nur die Weibchen mit lebenden Foeten am 22. Tag p.c. berücksichtigt. □ = Wert gegenüber Kontrolle > 50% erhöht. % Abnahme gegenüber Kontrollgruppe: *) = 10–25%. **) = 26–40%.

Tab. 11: IP, DMI und 2-OH-IP: Ratte, Befunde bei äußerer Inspektion und Alizarinrot-Färbung. Perorale Applikation vom 7.—16. Tag p.c.

Substanz	Anzahl Foeten mit Befunden									
	IP								DMI	2-OH-IP
	0	5	10	20	40	60	80	100	50	200
mg/kg/Tag p.os	0	5	10	20	40	60	80	100	50	200
Anzahl Muttertiere	100	18	17	17	20	17	11	4	10	14
Skelett:										
als Ganzes unreif									13	
Neurocranium:										
retardierte Ossifikation,	10				2		4	11	2	
Ossifikationsstörungen an einem oder mehreren Knochen			2						3	3
Viscerocranium:										
Kiefergelenk hypoplastisch									2	
Os hyoideum fehlt	2	1		2						
Wirbelsäule und Rippen:										
Ossifikationsstörungen thoracal (gespaltene Wirbelkörper),	2								1	1
lumbal und caudal,									2	
alle Wirbelkörper fehlen,									2	
Rippen wellenförmig verformt									1	
Sternum:										
unvollständig angelegt,										1
fehlt									2	
Vorderextremitäten:										
Carpalia und Phalangen nicht angelegt									2	
Beckengürtel:										
Os pubis hypoplastisch									2	
a) Anzahl Foeten mit Befunden	14	1	2	2	2	0	4	11	16	5
b) untersuchte Foeten (lebend und tot)	986	188	149	175	194	141	78	32	80	137
a) in % von b)	1	1	1	1	1	0	5	34	20	4

Regressionsgeraden einiger Versuchsparemeter nach Verabreichung von IP dar.

a) Imipramin (IP)

Im ganzen gesehen, wird die sc. Injektion des IP von den graviden Tieren fast ebenso gut vertragen wie die orale Verabreichung (Abb. 5). Für die Gewichtsentwicklung der Muttertiere stellen 10 mg/kg/Tag p.os bzw.

5 mg/kg/Tag sc. einen beginnenden „effect level“ dar. Der Symptomenkomplex, inklusive lokaler Irritation bei sc. Injektion, entspricht dem der nicht graviden Weibchen (siehe Tab. 8 und 9). Bei den Dosen 60 mg/kg/Tag sc. sowie 80 mg/kg/Tag p.os kommen die ersten Tiere ad exitum.

Die Gravidität der Weibchen wird erst durch toxische Dosen von IP gefährdet: Abort bei 60 mg/kg/

Tab. 12: IP, DMI und 2-OH-IP: Verträglichkeit, gravide Ratte. Subcutane Applikation vom 8.—12. Tag p.c.

Substanz	mg/kg/Tag sc.	Anzahl ♀	Gewichtsentwicklung Mittleres Tiergewicht in g*)						Exitusquote			Reproduktion								
			A	B	C		%		Tag p.c.	Deckenfolg in %	% gravide ♀ mit			Anzahl pro Muttertier						
					vor Appl.	während Appl.	nach Appl.	Δ B-A			Δ C-A	während Appl.	nach Appl.	lebenden Foeten am 22. Tag p.c.	vollständiger Resorption	Abort	lebende Foeten	tote Keimlinge	Implantationen	% Foeten mit Befunden
IP	0	118	212	233	274	+21	+62	0	0	—	91	100	0	0	9,5	0,5	10,0	2	5,07	
	5	19	220	234	275	+14	+53	0	0	—	95	100	0	0	9,3	0,6	9,9	0	5,06	
	10	18	219	229	271	+10	+52	0	0	—	90	100	0	0	9,7	0,4	10,1	1	5,03	
	20	18	217	225	262	+ 8	+45	0	0	—	90	100	0	0	9,8	0,7	10,5	9	4,74	
	40	39	203	207	234	+ 4	+31	0	0	—	98	87	0	13	8,7	1,0	9,7	10	4,52*)	
	60	34	205	200	214	— 5	+ 9	9	3	2×10., 14., 19.	85	29	0	59	8,0*)	2,6	10,6	26	4,06*)	
	80	36	218	211	214	— 7	— 4	17	8	9., 2×11., 13., 2×14., 2×19., 20.	90	22	6	47	8,3*)	3,5	11,8	9	3,43**)	
	100	38	224	211	217	—13	— 7	16	0	9., 2×10., 2×12., 16.	95	34	14	37	6,8**)	3,2	10,0	11	3,88**)	
DMI	40	16	241	227	248	—14	+ 7	25	6	9., 3×10., 15.	80	56	0	13	7,4*)	3,1	10,5	5	4,69	
2-OH-IP	60	16	205	224	249	+19	+44	0	0		75	80	0	20	10,4	0,6	11,0	1	4,39*)	

†) = Es wurden nur die Weibchen mit lebenden Foeten am 22. Tag p.c. berücksichtigt. □ = Wert gegenüber Kontrolle > 50% erhöht.
% Abnahme gegenüber Kontrollgruppe: *) = 10–25%; **) = 26–32%.

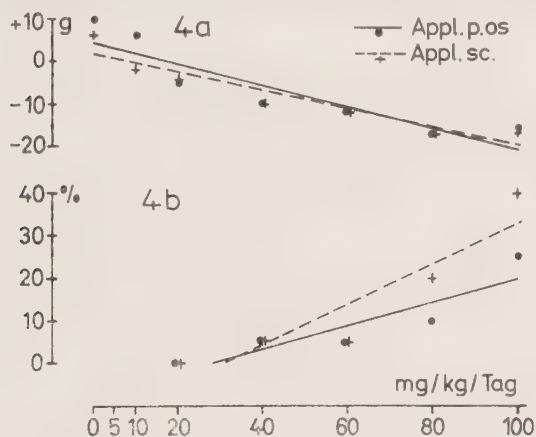


Abb. 4: a: Nicht gravide Ratte; mittleres Tiergewicht Δ B-A in g. Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = -0,25x + 4,5$; sc. $y = -0,22x + 2,0$. b: Exitusquote in %. Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = 0,28x - 7,5$; sc. $y = 0,48x - 14,5$.

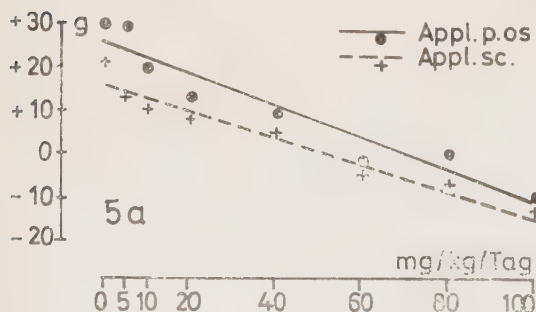


Abb. 5a: Gravid Ratte. Mittleres Tiergewicht Δ B-A in g. Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = -0,38x + 25,9$; sc. $y = -0,30x + 15,9$.

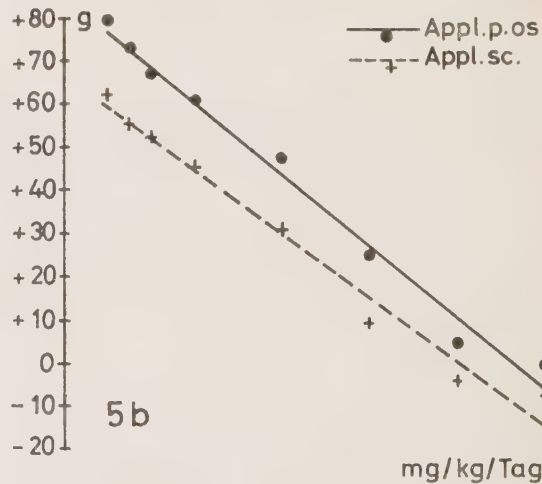


Abb. 5b: Mittleres Tiergewicht Δ C-A in g. Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = -0,82x \pm 76,9$; sc. $y = -0,73x \pm 59,2$.

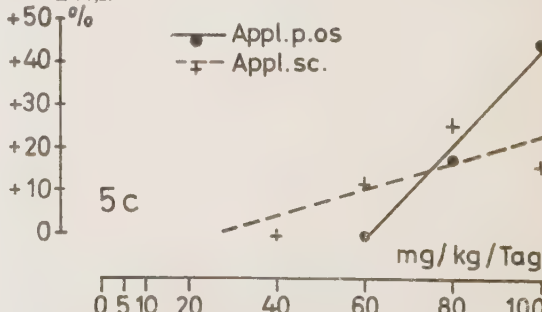


Abb. 5c: Exitusquote in %. Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = 1,10x - 67,4$; sc. $y = 0,30x - 8,1$.

Tag p.os bzw. 40 mg/kg/Tag sc., vollständige Resorption aller Keimlinge in beiden Serien bei 80 mg/kg/Tag. Die Behandlung der Muttertiere mit IP beeinflusst weder bei oraler noch bei sc. Gabe im untersuchten Dosisbereich die Implantationsquote. Die Zahl der toten

Keimlinge (vorwiegend Resorptionen im embryonalen Stadium) ist fast in allen untersuchten Dosen erhöht. Das mittlere Foetengewicht, welches am raschesten auf eine auch nur schwache Intoxikation des Muttertieres reagiert, ist nach beiden Applikationstechniken dosis-

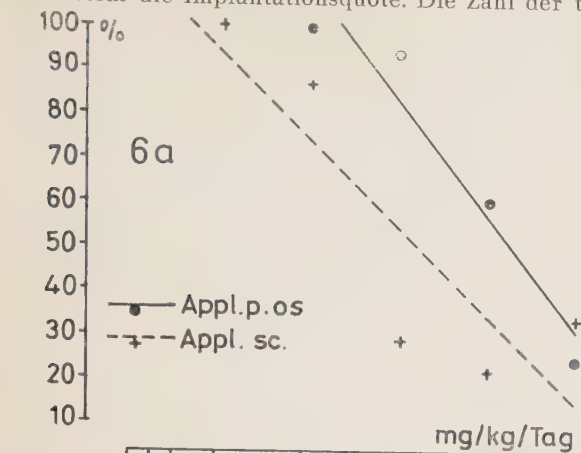


Abb. 6a: % Weibchen mit lebenden Foeten am 22. Tag p.c. Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = -1,29 \times 160,4$; sc. $y = 0,98 \times +113,6$.

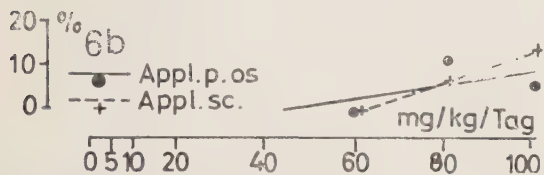


Abb. 6b: % Weibchen mit vollständiger Resorption. Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = 0,16 \times -6,8$; sc. $y = 0,35 \times 21,5$.

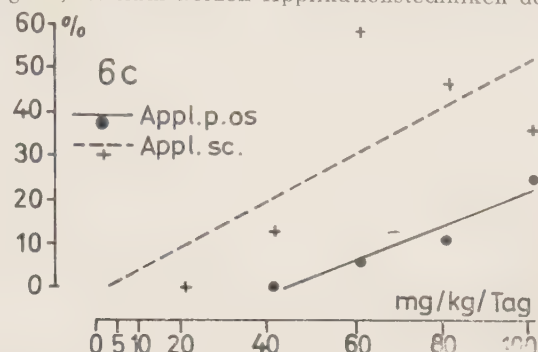


Abb. 6c: % Weibchen mit Abort. Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = 0,40 \times -17,8$; sc. $y = 0,54 \times -1,3$.

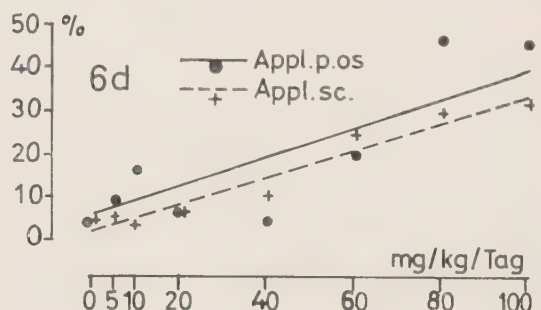


Abb. 6d: % tote Keimlinge (bezogen auf Implantationen). Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = 0,33 \times +6,5$; sc. $y = 0,51 \times +2,8$.

Tab. 13: IP, DMI und 2-OH-IP: Ratte, Befunde bei äußerer Inspektion und Alizarinrot-Färbung. Subcutane Applikation vom 8.—12. Tag. p.c.

Substanz	Anzahl Foeten mit Befunden									
	IP								DMI 2-OH-IP	
mg/kg/Tag p.os	0	5	10	20	40	60	80	100	40	60
Anzahl Muttertiere	118	19	18	18	34	10	8	13	10	12
Gestalt:										
Hydrops universalis					1	5*)				
Skelett:										
als Ganzes unreif									2	
Neurocranium:										
retardierte Ossifikation	16		2	15	25	22	5	5		
Ossifikationsstörungen an einem oder mehreren Knochen	2				4				1	1
Viscerocranium:										
Palatoschisis					1					
Mikrognathie					1					
Wirbelsäule und Rippen:										
Ossifikationsstörungen thoracal (gespaltene Wirbelkörper)	5							3		
partiell verfrühte Synostose in Längsachse					1					
Rippen wellenförmig verformt	1				2		1			
Rippenfusion								1		
partielle sterno-costale Synostose					1					
Sternum:										
unvollständig angelegt					1	8	1	5	1	
ein bis alle Ossifikationszentren gespalten					1			1	1	
Synostose der 3 obersten Ossifikationszentren					1					
Vorderextremitäten:										
Mikromelie**)					1					
Hinterextremitäten:										
Pes varus					1					
a) Anzahl Foeten mit Befunden	22	0	2	15	30	22	6	10	3	1
b) untersuchte Foeten (lebend und tot)	1125	176	174	177	295	84	66	88	67	125
a) in % von b)	2	0	1	9	10	26	9	11	5	1

*) = Alle Foeten aus 1 Wurf, davon 4 Totgeburten; **) = Röhrenknochen hypoplastisch und deformiert, abnorme Lage der Carpalia.

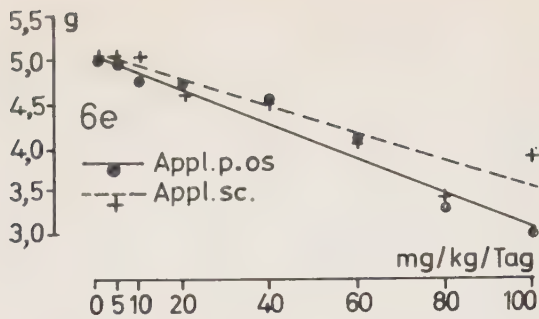


Abb. 6e: Mittleres Foetengewicht in g. Gleichung der Regressionsgeraden: p.os $y = -0,020 x + 5,06$; sc. $y = -0,016 x + 5,09$.

Tab. 14: IP: Ratte, einmalige Applikation von 100 mg/kg p.os an verschiedenen Tagen p.c. Reproduktionsphysiologische Daten.

Applikation (Tag p.c.)	Σ 7.-16.		7.		8.		9.		10.		11.		12.		13.		14.		15.		16.	
Gruppe*)	0		0	IP	0	IP	0	IP	0	IP	0	IP	0	IP	0	IP	0	IP	0	IP	0	IP
Deckenfolg	absolut	94/110	7/10	16/20	10/10	18/20	5/10	18/20	19/20	39/40	10/10	16/20	9/10	18/20	10/10	18/20	6/10	17/20	9/10	19/20	9/10	18/20
	%	86	70	80	100	90	50	90	95	98	100	80	90	90**)	100	90	60	85	90	95†)	90	90
Anzahl pro Muttertier:																						
lebende Foeten		9,9	9,7	9,8	9,9	10,4	9,2	9,7	10,6	9,8	10,0	10,8	9,9	10,0	9,5	8,9††)	11,3	9,4	9,4	9,6	8,7	9,3
tote Keimlinge		0,5	0,7	0,3	0,1	0,7	0	0,7	0,3	0,9	1,0	0,2	0	0,9	0,8	0,7	0,3	0,9	1,1	0,6	0,4	0,2
Implantationen		10,4	10,4	10,1	10,0	11,1	9,2	10,4	10,9	10,7	11,0	11,0	9,9	10,9	10,3	9,6	11,6	10,3	10,5	10,2	9,1	9,5
% Foeten mit Befunden		1		0		1		8		5		1		2		0		1		0		0
mittleres Foetengewicht in g		5,19	5,20	5,10	5,14	5,09	5,24	4,71	5,16	4,82	5,04	4,74	5,16	4,71	5,23	5,00	5,26	4,95	5,30	4,93	5,31	4,84

*) 0 = Kontrolle; IP = Imipramin 100 mg/kg p.os. **) 1 Weibchen kam am 13. Tag p.c. spontan ad exitum und wurde für die weiteren Berechnungen nicht herangezogen. †) 1 Weibchen zeigte bei Sektion am 22. Tag p.c. vollständige Resorption aller Keimlinge und wurde für die weiteren Berechnungen nicht herangezogen. ††) = 10% Abnahme gegenüber Kontrollgruppe Σ 7.-16. Tag p.c.

Tab. 15: IP: Ratte, Befunde bei äußerer Inspektion und Alizarinrot-Färbung. Einmalige Applikation von 100 mg/kg per os an verschiedenen Tagen p. c.

Gruppe*)	Anzahl Foeten mit Befunden											
	0	IP										
Applikation (Tag p.c.)	Σ 7.-16.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	
Anzahl Muttertiere	94	16	18	18	39	16	17	18	17	18	18	
Gestalt:												
Hydrops universalis					4**)							
Zwergwuchs						1						
siamesische Zwillinge, Typ Thoracopagus	1 (10.)											
Neurocranium:												
retardierte Ossifikation	1 (10.)		1	12**)	10	1						
Ossifikationsstörungen an einem oder mehreren Knochen							2					
Viscerocranium:												
Palatoschisis					2**)							
Os hyoideum fehlt									1			
Wirbelsäule und Rippen:												
Ossifikationsstörungen thoracal (gespaltene Wirbelkörper)	3 (10.)			1	6	1	1					
Skoliose thoracal-lumbal					1							
Lumbal- und Sacralwirbel nicht angelegt					4**)							
alle Wirbelkörper fehlen					4**)							
Rippen wellenförmig verformt					1		3					
Rippenfusionen					2							
Sternum:												
unvollständig angelegt			1	7	1	1						
Vorderextremitäten und Schultergürtel:												
hypoplastisch und deformiert					4**)							
Hinterextremitäten und Beckengürtel:												
hypoplastisch und deformiert					4**)							
Viscera:												
Eventration	1 (12.)			1	1							
a) Anzahl Foeten mit Befunden	6	0	1	14	18	2	4	0	1	0	0	
b) untersuchte Foeten (lebend und tot)	930	157	187	175	384	172	170	161	159	173	167	
a) in % von b)	1	0	1	8	5	1	2	0	1	0	0	

*) 0 = Kontrolle; IP = Imipramin 100 mg/kg p.os; **) = Alle Foeten aus 1 Wurf. () = Applikation (Tag p.c.).

Tab. 16: IP: Ratte, einmalige Applikation von 100 mg/kg subcutan an verschiedenen Tagen p.c. Reproduktionsphysiologische Daten.

Applikation (Tag p.c.)		Σ 8.—12.		8.		9.		10.		11.		12.	
Gruppe*)		0	0	IP	0	IP	0	IP	0	IP	0	IP	
Deckerfolg	absolut %	97/110 88	17/20 85	19/20 95	25/30 83	16/20 80**)	29/30 97	17/20 85	16/20 80	18/20 90	10/10 100	20/20 100	
Anzahl pro Muttertier:													
lebende Foeten		9,7	9,0	9,7	9,1	9,3	9,8	9,4	10,6	9,4	10,6	9,2	
tote Keimlinge		0,6	0,5	0,6	0,8	0,9	0,4	0,6	0,6	0,7	0,4	0,9	
Implantationen		10,3	9,5	10,3	9,9	10,2	10,2	10,0	11,2	10,1	11,0	10,1	
% Foeten mit Befunden		2		2		2		0		0		2	
mittleres Foetengewicht in g		5,09	5,08	4,74	5,13	4,94	5,04	4,67	5,15	4,73	5,07	4,81	

*) 0 = Kontrolle; IP = Imipramin 100 mg/kg sc. **) 1 Weibchen kam am 20. Tag p.c. spontan ad exitum und wurde für die weiteren Berechnungen nicht herangezogen.

*) 0 = Kontrolle; IP = Imipramin 100 mg/kg sc. **) 1 Weibchen kam am 20. Tag p.c. spontan ad exitum und wurde für die weiteren Berechnungen nicht herangezogen.

Tab. 17: IP: Ratte, Befunde bei äußerer Inspektion und Alizarinrot-Färbung. Einmalige Applikation von 100 mg/kg subcutan an verschiedenen Tagen p.c.

Gruppe*)	Anzahl Foeten mit Befunden						
	Σ 8.—12.	8.	9	10.	11.	12.	
Applikation (Tag p.c.)	97	19	15	17	18	20	
Anzahl Muttertiere							
Zentral-Nerven-System:							
Meningocele		1					
Neurocranium:							
retardierte Ossifikation						3	
Ossifikationsstörungen an einem oder mehreren Knochen	5 (8., 10.)	2	1				
Viscerocranium:							
Palatoschisis				1			
Mikrostomie	1 (11.)						
Mikrognathie	1 (11.)						
Os hyoideum fehlt	1 (12.)						
Wirbelsäule:							
Ossifikationsstörungen thoracal (gespaltene Wirbelkörper)	8 (8., 9., 10.)	1					
Sternum:							
unvollständig angelegt	4**) (10.)						
alle Ossifikationszentren gespalten.		1					
a) Anzahl Foeten mit Befunden	18	3	3	0	0	3	
b) untersuchte Foeten (lebend und tot)	941	175	139	160	169	184	
a) in % von b)	2	2	2	0	0	2	

*) 0 = Kontrolle; IP = Imipramin 100 mg/kg sc. **) = Alle Foeten aus 1 Wurf.
() = Applikation (Tag p.c.).

Muttertier und Nachkommen toxisch. Bei den Weibchen finden sich Gewichtsabnahme, Symptome wie bei IP, Exitus und Aborte. Die lokale Irritation bei sc. Injektion von DMI ist etwas weniger stark als nach IP. Bei oraler Verabreichung werden reduzierte Implantationsquote, erhöhte Anzahl toter Keimlinge, vermindertes Foetengewicht sowie viele Tiere mit gehemmter Reifung des Skeletts beobachtet. Bei sc. Gabe tritt eine stark erhöhte Anzahl toter Früchte (vorwiegend frühe Resorptionen) und vermindertes Foetengewicht auf.

c) 2-Hydroxy-imipramin (2-OH-IP)

Nach repetitierter Applikation von 200 mg/kg/Tag p.os läßt sich praktisch kein Unterschied zur Kontrollserie feststellen, lediglich 1 von 15 Weibchen abortierte.

Die Dosis 60 mg/kg/Tag sc. ist für die Muttertiere toxisch: die Gewichtsentwicklung bleibt hinter der Kon-

Tab. 18: IP, DMI und 2-OH-IP: Kaninchen, Verträglichkeit. Subcutane Applikation vom 7.—16. Tag p.c.

Substanz	mg/kg/Tag sc.	Anzahl gravide ♀	Gewichtsentwicklung*)						Symptome**)							Reproduktion									
			Mittleres Tiergewicht in kg			% gravide mit ♀			Benommenheit	beschleunigte Atmung	Ataxie	Krämpfe: tonisch-klonisch	Dyspnoe	Bauch-Seitenlage	Deckerfolg in %	% gravide mit ♀ lebenden Foeten am 29. Tag p.c.	% gravide mit vollständiger Resorption	Abort	lebende Foeten	tote Keimlinge	Implantationen	mittleres Foeten gewicht in g	% Würfe mit abnormen Foeten	% Foeten mit Befund	
			vor Appl.	während Appl.	nach Appl.	Δ B-A in g	Δ C-A in g	Exitus																	lokaler Irritation (Nekrosen)
—	0	61	2,65	2,75	2,88	+100	+250	0	0						79	100	0	0	6,2	0,4	6,6	35	8	1	
IP	10	11	2,82	2,84	2,92	+ 20	+100	0	55	(+)	(+)				92	91	0	9	7,4	0,9	8,3	32	10	3	
	20	11	2,74	2,78	2,89	+ 40	+150	0	45	+	+	(+)	(+)		92	73	0	27	5,9	1,0	6,9	32	38	12	
	30	23	2,41	2,44	2,54	+ 30	+130	0	52	+	+	+	(+)	(+)	96	91	0	9	5,4	1,3	6,7	30a	35	10	
	50	20	2,71	2,60	2,69	—110	+ 20	0	65	+	+	+	(+)	(+)	83	50	45	5	4,7	1,9	6,6	32	90	54	
DMI	30	37	2,48	2,47	2,56	— 10	+ 80	0	49	+	+	(+)			77	89	8	3	5,2	0,7	5,9	32	21	5	
	50	22	2,76	2,61	2,65	—150	—110	32†)	50	+	+	+			92	23	45	0	5,4	0,8	6,2	30a	80	26	
2-OP-IP	10	18	2,46	2,66	2,81	+200	+350	0	39	+	+				90	100	0	0	6,2	0,7	6,9	33	72	17	
	30	17	2,42	2,58	2,69	+160	+270	0	76	+	+	+	+	(+)	(+)	89	88	12	0	5,7	1,4	7,1	33	60	24
	50	18	2,31	2,43	2,37	+120	+ 60	0	44	+	+	+	+	(+)	(+)	78	39	55	6	4,7	2,0	6,7	26b	100	59

*) Es wurden nur die Weibchen mit lebenden Foeten am 29. Tag p.c. berücksichtigt. **) (+) = einzelne Tiere; + = praktisch alle Tiere. †) Zeitpunkt: 12., 14., 16., 22. bzw. 26. Tag p.c. □ = Wert gegenüber Kontrolle um > 50% erhöht. % Abnahme gegenüber Kontrollgruppe: a = 14%; b = 26%.

Tab. 19: IP, DMI und 2-OH-IP: Kaninchen, Befunde bei äußerer Inspektion, Autopsie und Alizarinrot-Färbung.

Substanz	Dosis mg/kg/Tag sc.	*) einseitig (**) ein- und beid- seitig	% Foeten mit Befunden										
			—	IP					DMI		2-OH-IP		
				0	10	20	30	50	30	50	10	30	50
Zentral-Nerven-System:													
Craniorhachischisis													3
An-Exencephalie													3
Encephalomeningocele							6					2	
Hydrocephalus			1	6	2	20	2			9	12	18	
Encephalomeningocele mit Hydrocephalus											1		
„Affengesicht“													3
Zwischentotal			0	1	6	2	26	2	0	9	15	26	
mediale Annäherung der Bulbi oculi													5
Microphthalmie		**))						1		3	5	13	
fehlender Lidschluß		**))											5
Protrusio Bulbi oculi		**))								1			
Zwischentotal			0	0	0	0	0	1	0	4	5	23	
Viscerocranium:													
Ossa maxillare und nasale hypoplastisch, Microrhinie							3						3
Palatoschisis								1					
Micrognathie													3
Os hyoideum unvollständig								1			2		
Wirbelsäule und Rippen:													
Ossifikationsstörungen thoracal								1	7				
caudal							23		4	1	1	8	
Rippenfusionen		*))						1	4				
Sternum:													
Fusion von Ossifikationszentren				1			3						5
vollständige Synostose mit Verformung von Sternum und Thorax											1		
Vorderextremitäten:													
Micromelie		*))				1	3						
Arthrogryposis		**))	0,5			1	3						5
1. Strahl: reduzierte Phalangenzahl		**))	0,3			2	6	1	11	3	2	21	
fehlt		**))			2						1	3	
5. Strahl: fehlt		*))				1	3						
Syndactylie		*))					3						
Ectromelie		**))					6						3
Zwischentotal			0,8	0	2	4	14	1	11	3	4	26	
Hinterextremitäten und Becken-gürtel:													
Micromelie		*))						1					3
Pes valgus		*))											3
Hyperextension		*))					3						
Beckengürtel reduziert													
Beckengürtel gegen Wirbelsäule abgedreht											1	13	
5. Strahl: Digitus pedunculatus		*))						1				3	
Syndactylie		**))					3	1				3	
Ectromelie		**))					6	1				5	
Zwischentotal			0	0	0	0	9	1	0	0	1	18	
Viscera:													
Ascites						1	3						
Hydrothorax			0,3	1									
Eventration													
Omphalocele								1			1	3	
Anomalien													
Herz (asymmetrische Hyperplasie, Hyperplasie der Atria, 3 Atria)						1	6						
Leber (abnorm gelappt, z. T. im Zusammenhang mit Eventration)													
Gallenblase (A- und Hypoplasie, Verdoppelung)			0,3							1	1	5	
Nieren (Agenesie, nicht ascendiert)		*))											5
Zwischentotal			0,6	1	0	2	6	1	0	1	2	13	
a) Anzahl Foeten mit Befunden			5	2	6	12	19	8	7	19	20	23	
b) untersuchte Foeten (lebend und tot)			380	74	52	117	35	173	27	112	85	39	
a) in % von b)			1	3	12	10	54	5	26	17	24	59	

Tab. 20: TH: Kaninchen, Verträglichkeit, Perorale Applikation vom 7.—16. Tag p.c.

		Gewichtsentwicklung*)						Reproduktion								
		Mittleres Tiergewicht in kg						% gravide ♀ mit				Anzahl pro Muttertier				
Thalidomid mg/kg/Tag p.os	Anzahl gravide ♀	vor Appl.	während Appl.	nach Appl.	Δ B-A in g	Δ C-A in g	Deckenfolg in %	lebenden Foeten am 29. Tag p.c.	vollständiger Resorption	Abort	lebende Foeten	tote Keimlinge	Implantationen	mittleres Foetengewicht in g	% Würfe mit abnormen Foeten	% Foeten mit Befund
0	24	2,68	2,80	2,96	+120	+280	67	96	0	4	6,7	0,04	6,7	36	13	3
15	15	2,34**)	2,66**)	2,74**)	+320	+400	83	100**)	0	0	5,0	1,1**)	6,1	36	93	35
50	17	2,74	2,80	2,88	+60	+140	68	88	12	0	4,4	1,5	5,9a)	39	100	91
100	20	2,69	2,73	2,78	+40	+90	67	80	15	5	4,2	1,8	6,0b)	34	100	88
150	27	2,82	2,85	2,84	+30	+20	82	89	11	0	4,1	3,1	7,2	31c)	100	89

*) Es wurden nur die Weibchen mit lebenden Foeten am 29. Tag p.c. berücksichtigt. **) Inbegriffen 1 ♀ mit schwerer Dystocie in der Nacht vor Sektion (7 tote Foeten in utero; äußere Inspektion, Autopsie und Alizarinrot-Färbung: o.B.). Wert gegenüber Kontrolle um > 50% erhöht. Abnahme gegenüber Kontrollgruppe: a) = 12%; b) = 10%; c) = 14%.

Tab. 21: TH: Kaninchen, Befunde bei äußerer Inspektion, Autopsie und Alizarinrot-Färbung.

Thalidomid mg/kg/Tag p.os	*) einseitig) ein- u. beidseitig	% Foeten mit Befunden				
		0	15	50	100	150
Zentral-Nerven-System:						
An-Exencephalie					10	17
Encephalomeningocele					9	9
Hydrocephalus			4	5	13	26
Microcephalie mit Meningocele oder Hydrocephalus						2
Zwischentotal		0	4	5	33	53
mediane Annäherung der Bulbi oculi					19	28
Microphthalmie	**) *)		10	11	16	18
fehlender Lidschluß	*)				2	
Zwischentotal		0	10	11	31	42
Suturalknochen:						
am Rand der Fontanelle	**) *)	3	2	2	5	13
Viscerocranium:						
Ossa maxillare und nasale hypoplastisch	**) *)			2	6	6
Cheilognathoschisis					2	2
Microrhinie					3	
Palatum hoch gewölbt					2	
Palatoschisis				2		3
Os hyoideum unvollständig			1	16	10	33
Wirbelsäule und Rippen:						
Ossifikationsstörungen cervical		1				1
thoracal						3
lumbal						1
sacral						6
caudal		1	18	63	85	79
Rippenfusionen	**) *)					2
Sternum:						
unvollständig angelegt		1			2	
Ossifikationszentren gegeneinander verschoben		3				1
Fusion von Ossifikationenzentren			1	11	3	
Vorderextremitäten:						
Arthrogryposis	**) *)			14	16	30
Pronation	**) *)			2	5	5
Zwischentotal		0	0	16	21	35
1. Strahl: reduzierte Phalangenzahl	**) *)			7	12	6
Pollex pedunculatus	**) *)			7	15	12
fehlt	**) *)			5	8	17
Triphalangie	*)			2		
diverse Anomalien	*)			4		1
2. Strahl: Carpalia fehlen	*)					1
Ectromelie	*)					2
Zwischentotal		0	0	26	34	38

trollserie zurück, es werden Symptome (Schlafheit, Aggressivität sowie verkrustete Augen und Nasen) und Aborte beobachtet. Das Ausmaß der lokalen Irritation entspricht demjenigen nach IP. Bei den Nachkommen findet sich lediglich ein vermindertes Foetengewicht.

1.5. Einzelapplikation von Imipramin (IP) 100 mg/kg/Tag p. os oder sc. an gravide Ratten

Die Resultate dieser Versuchsserien sind in Tab. 14—17 zusammengestellt.

Die einmalige orale oder sc. Applikation von IP 100 mg/kg wirkt für die Muttertiere toxisch: während durchschnittlich 2 Tagen tritt ein Gewichtsverlust ein, von dem sich die Weibchen erst nach 3 weiteren Tagen wieder erholt haben. Die Empfindlichkeit der Tiere nimmt nach dem 12. Tag p.c. ab, indem das Gewicht nur noch während eines Tages sinkt und die Tiere den Gewichtsverlust nach 3 Tagen wieder aufgeholt haben.

In beiden Serien (p.os und sc.) tritt je 1 Exitus auf. Es werden keine Aborte beobachtet, doch resorbierte ein Weibchen den gesamten Wurf nach oraler Applikation am 15. Tag pc.

Die Werte für Implantationsquote, Anzahl toter Keimlinge und Foetengewicht unterscheiden sich nach der oralen und sc. Applikation von IP nicht von denen der Kontrollserien. Kleinere Abweichungen finden sich lediglich nach oraler Verabreichung von IP am 9. und 10. Tag pc.: erhöhte Zahl von Foeten mit Befunden, die jedoch überwiegend auf einer Reifungshemmung des Schädeldaches beruhen, sowie am 13. Tag pc.: Verminderung der Anzahl lebender Foeten gegenüber Kontrolle (10 Prozent).

Thalidomid mg/kg/Tag p.os	*) einseitig **) ein- u. beidseitig	-% Foeten mit Befunden				
		0	15	50	100	150
Hinterextremitäten und Beckengürtel:						
Micromelie	**))					2
Pes valgus	**))			5	2	15
Beckengürtel reduziert und/oder teilweise fusioniert					2	8
Anzahl Tarsalia reduziert	*))					3
2. Strahl: fehlt	**))					4
5. Strahl: Digitus pedunculus	*))					3
Zwischentotal		0	0	5	2	15
Viscera:						
Ascites				4	2	
Eventration						2
Omphalocele				2	2	1
Diaphragmahernie				2	3	
Megalocardie†)				5		
Anomalien						
Lunge (Hypoplasie im Zusammenhang mit Diaphragmahernie)					2	
Leber (abnorm gelappt, z. T. im Zusammenhang mit Omphalocele)				5	3	
Gallenblase (A- und Hypoplasie, Verdoppelung)			4	18	7	
Nieren (A- und Hypoplasie, Hydronephrose)	**))	1		2	6	
Magen (Hypoplasie im Zusammenhang mit Diaphragmahernie)					2	
Zwischentotal		1	4	21	18	3
Hydramnion				2		
a) Anzahl Foeten mit Befunden		5	29	52	59	88
b) untersuchte Foeten (lebend und tot)		156	82	57	67	99
a) in % von b)		3	35	91	88	89

†) = Alle Foeten aus 1 Wurf.

2. Kaninchen (repetierte Applikation)

Die Resultate der Untersuchungen über die Verträglichkeit repetierter Applikationen von IP, DMI und 2-OH-IP (sc.) sowie TH (p.os) am graviden Kaninchen sind in Tab. 18–21 zusammengestellt. In Abb. 7 werden die Regressionsgeraden für die Gewichtsentwicklung der Muttertiere wiedergegeben. Abb. 8 zeigt die graphische Darstellung einiger Versuchsparameter.

Das Ausmaß der lokalen Irritation nach sc. Injektion von IP, DMI und 2-OH-IP ist nicht dosisabhängig, es scheint eher individuell verschieden zu sein, da bei allen Dosen alle Grade der cutanen Schädigung (d. h. von Hautverdickungen bis zu großflächigen Laesionen) beobachtet wurden.

a) Imipramin (IP)

Die Gewichtsentwicklung der Muttertiere erfährt, verglichen mit den Kontrollen, schon nach 10 mg/kg/Tag

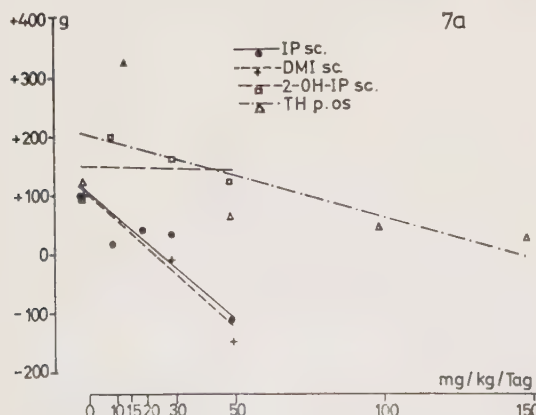


Abb. 7a: Mittleres Tiergewicht $\Delta B-A$ in g. Gleichung der Regressionsgeraden: IP $y = -4,41 x + 113$; DMI $y = -4,67 x + 112$; 2-OH-IP $y = -0,17 x + 149$; TH $y = -1,45 x + 203$.

sc. eine Retardierung. Bei dieser Dosis treten auch vereinzelt die ersten Symptome wie Benommenheit und beschleunigte Atmung auf. Das Vergiftungsbild nach 30 und 50 mg/kg/Tag entspricht demjenigen nach akuter Intoxikation (Tab. 2).

Der Verlauf der Gravidität scheint schon bei der niedrigsten geprüften Dosis (10 mg/kg/Tag) leicht gefährdet zu sein, da bereits ein Abort beobachtet wird. Nach höheren Dosen von IP tritt allerdings keine dosisabhängige Zunahme der Abortquote ein, doch tragen in der Gruppe 50 mg/kg/Tag nur noch die Hälfte der Weibchen ihre Foeten aus, weil fast alle übrigen Tiere ihren Wurf vollständig resorbieren.

Die Implantationsquote wird durch die Behandlung der Muttertiere mit IP nicht beeinflusst, doch steigt die Zahl der toten Keimlinge (vorwiegend embryonale Resorptionen) dosisabhängig an und das mittlere Foetengewicht ist gegenüber den Kontrollen vermindert (keine Dosisabhängigkeit).

Die Zahl der Foeten mit Abnormitäten ist nach IP 10 mg/kg/Tag erst schwach erhöht (3%), steigt aber mit zunehmenden Dosen bis auf 54%. Die Mißbildungen betreffen vor allem das ZNS (Hydrocephalus, Exencephalie) und die Vorderextremitäten (z. B. Reduktion des 1. Strahles, Fehlen des 5. Strahles,

Ectromelie), nach IP 50 mg/kg/Tag auch Hinterextremitäten und Wirbelsäule.

b) Desmethyl-imipramin (DMI)

In analogen Dosierungen (30 und 50 mg/kg/Tag sc.) ist DMI für das Kaninchen toxischer als IP: die Gewichtsentwicklung der Muttertiere wird noch ungünstiger beeinflusst (z. T. Gewichtsabnahme), und in der höheren Dosis kommen rund ein Drittel der Weibchen ad exitum. Das Symptomenbild nach DMI zeigt einen etwas anderen Charakter als nach IP, indem nie Krämpfe, Dyspnoe oder Bauch-Seitenlage beobachtet wurden.

Da bei den Weibchen nach 50 mg/kg/Tag neben 32% Exitus auch noch bei 45% eine vollständige Resorption des Wurfs stattfindet, tragen nur noch 23% der Muttertiere ihre Foeten aus.

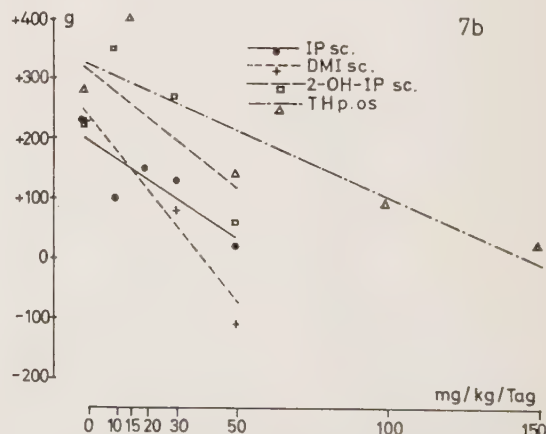


Abb. 7b: Mittleres Tiergewicht $\Delta C-A$ in g. Gleichung der Regressionsgeraden: IP $y = -3,35 x + 200$; DMI $y = -6,35 x + 246$; 2-OH-IP $y = -3,98 x + 317$; TH $y = -2,25 x + 328$.

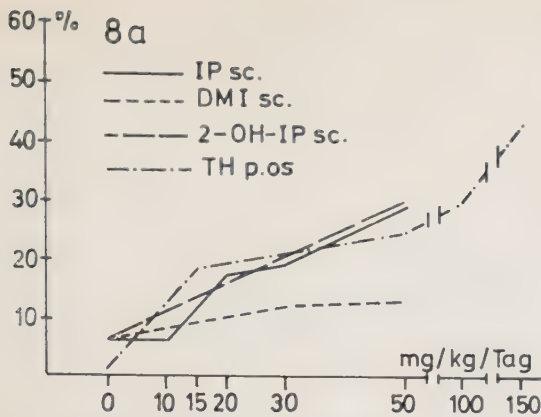


Abb. 8a: Kaninchen. % tote Keimlinge (bezogen auf Anzahl der Implantationen).

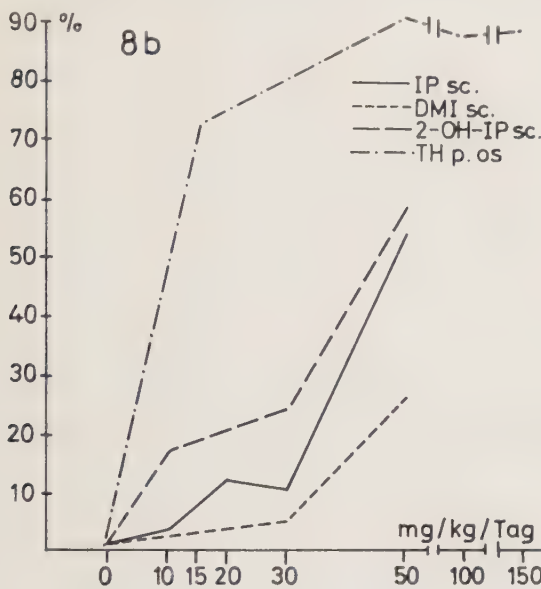


Abb. 8b: % Foeten mit Befund (bezogen auf Total an Foeten, lebend und tot).

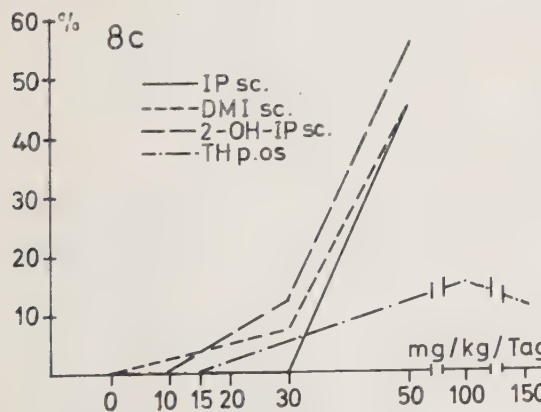


Abb. 8c: % Weibchen mit vollständiger Resorption (bezogen auf Total an graviden Weibchen).

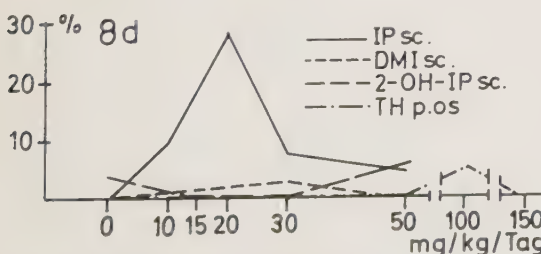


Abb. 8d: % Weibchen mit Abort (bezogen auf Total an graviden Weibchen).

Die Implantationsquote ist nach DMI 30 mg/kg/Tag gegenüber dem Kontrollwert um 11% vermindert, hingegen bei 50 mg/kg/Tag wieder normal. Im Vergleich zu IP ist die Quote der toten Keimlinge niedrig, das Foetengewicht liegt in der gleichen Größenordnung.

Die Anzahl Nachkommen mit Abnormitäten ist gegenüber den Kontrollen dosisabhängig erhöht, doch beträgt ihre Zahl pro Dosis nur etwa die Hälfte der nach gleichen Dosen von IP aufgetretenen Mißbildungen. Die Befunde sind vor allem am 1. Strahl der Vorderextremität lokalisiert (Reduktion), daneben werden noch kleinere Aberrationen an Wirbelsäule und Rippen beobachtet. In der ganzen Serie (d. h. 30 und 50 mg/kg/Tag sc.) finden sich lediglich 3 von 200 Tieren mit Befunden am ZNS (Hydrocephalus).

c) 2-Hydroxy-imipramin (2-OH-IP)

Im Gegensatz zu IP und DMI beeinflusst 2-OH-IP während der Applikationsphase ($\Delta B-A$) in keiner der verabreichten Dosen die Gewichtsentwicklung der Muttertiere. Im Zeitraum nach der Applikation tritt jedoch bei 50 mg/kg/Tag ein Gewichtsverlust ein ($\Delta C-A > \Delta B-A$). Schon bei 2-OH-IP 10 mg/kg/Tag zeigen fast alle Tiere die ersten Symptome; das Vergiftungsbild in höheren Dosen ist identisch mit dem nach IP.

Wie bei IP und DMI findet sich nach 2-OH-IP 50 mg/kg/Tag eine große Zahl von Weibchen mit vollständiger Resorption aller Keimlinge.

Die Implantationsquote ist gegenüber dem Kontrollwert nicht verändert, doch findet sich eine dosisabhängige Zunahme von toten Keimlingen, und das Foetengewicht ist allgemein etwas vermindert (26% in der 50 mg/kg-Gruppe).

Die Zahl der Foeten mit Befund beträgt bereits nach 10 mg/kg/Tag 17% und nimmt mit steigender Dosis weiter zu bis 59%. Unter den beobachteten Mißbildungen herrschen diejenigen an Vorderextremitäten (z. B. Fehlen des 1. Strahles, Arthrogryposis) und ZNS (u. a. Hydrocephalus, Microphthalmie) vor. Mit zunehmender Dosis treten auch Abnormitäten an Beckengürtel (Reduktion), Hinterextremitäten, Viscera und Wirbelsäule auf.

d) Thalidomid (TH)

Vergleicht man die Werte für die Gewichtsentwicklung der Muttertiere, so scheint 50 mg/kg/Tag die niedrigste Dosis zu sein, welche im Vergleich zu den Kontrollwerten eine Retardierung auslöst. Wird jedoch die Differenz zwischen $\Delta C-A$ und $\Delta B-A$ errechnet, die ein Maß für die Gewichtszunahme nach der Applikationsphase bildet, so stellt man fest, daß bereits 15 mg/kg/Tag die Gewichtsentwicklung in dieser Zeitspanne verlangsamen. Neben einigen vollständigen Resorptionen in Dosen ab 50 mg/kg/Tag stellt die Beeinflussung der Gewichtsentwicklung das einzige Anzeichen einer Allgemein-Toxizität dar, denn bei keiner der untersuchten Dosen von TH wurden Symptome oder Exitus beobachtet.

Im Gegensatz zur Zahl der toten Keimlinge, die dosisabhängig zunimmt, hat die Verabreichung von TH keinen gesicherten Einfluß auf die Implantationsquote. Das mittlere Foetengewicht erfährt erst in Dosen über 50 mg/kg/Tag eine Verminderung.

Nach TH 15 mg/kg/Tag zeigen bereits 35%, nach 50 mg/kg/Tag 91% der Foeten Befunde. Interessanterweise ist dieser Prozentsatz in Dosen über 50 mg/kg/Tag nicht weiter erhöht, so daß nie alle Foeten Mißbildungen aufweisen. Die beobachteten Abnormitäten sind vorwiegend im caudalen Teil der Wirbelsäule (Ossifikationsstörungen), dem ZNS (u. a. Hydrocephalus, An-Exencephalie, Annäherung der Bulbi oculi, Microphthalmie) und an den Vorderextremitäten (z. B. Arthrogryposis, verschiedene Grade der Reduktion des 1. Strahles) lokalisiert. Im mittleren Dosenbereich von TH (50–100 mg/kg/Tag) treten gehäuft Visceralanomalien (wie Eventration, mißgebildete Gallenblase, Niere, Leber) auf, und nach hohen Gaben lassen sich auch Befunde an Viscerocranium und Hinterextremitäten (u. a. pes valgus) beobachten. Obwohl die Zahl der Tiere mit Mißbildungen in Dosen über 50 mg/kg/Tag nicht mehr zunimmt, kann insofern eine Dosisabhängigkeit gesehen werden, indem eine Korrelation zwischen der

verabreichten Menge von TH und dem Schweregrad bzw. der Komplexität der Befunde am Einzeltier besteht.

C) DISKUSSION

1. Ratte

In Abb. 9 sind unter Berücksichtigung aller Versuchs-kriterien die bei repetitiver Applikation von IP, DMI und 2-OH-IP an der Ratte (getrennt nach nicht graviden Weibchen, Muttertieren und Nachkommen) erhaltenen Resultate der Verträglichkeit im Hinblick auf „no-effect level“, beginnenden „effect level“ und „effect level“ eingestuft. Bei dieser Einteilung handelt es sich um eine rein subjektive Bewertung der Ergebnisse.

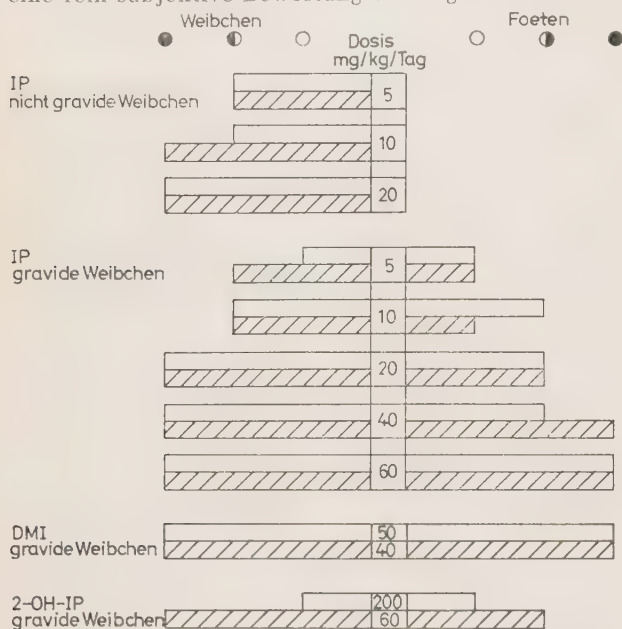


Abb. 9: Einstufung der Verträglichkeit von IP, DMI und 2-OH-IP für nicht gravide und gravide Ratten sowie deren Nachkommen. ○ = „no-effect level“; ● = beginnender „effect level“; ● = „effect level“; □ = p.os Applikation (10 Verabreichungen); ▨ = sc. Applikation (5 Verabreichungen).

Vergegenwärtigt man sich die Tatsache, daß in diesen Versuchen die Weibchen der sc. Serien 5, die der p.os-Serien hingegen 10 Verabreichungen erhielten, so folgt, daß IP bei gleicher Dosierung sc. injiziert, doppelt so toxisch wirkt wie bei oraler Gabe: in bezug auf beginnenden „effect level“ und „effect level“ besteht in Abb. 9 fast kein Unterschied zwischen oraler und sc. Applikation.

Im weiteren ergibt sich aus den unter gleichen Versuchsbedingungen erhaltenen Ergebnissen keine deutliche Differenz in der Empfindlichkeit gegenüber IP zwischen graviden und nicht graviden Weibchen.

Bei Einstufungen der Toxizität von IP für die Nachkommen gilt ähnliches wie für die Muttertiere, doch liegt der Grad der Unverträglichkeit (beginnender „effect level“ — „effect level“) für die Frucht bis 40 mg/kg (p.os) bzw. 20 mg/kg (sc.) meist eine Stufe tiefer als für das Weibchen. Dies bedeutet, daß der Keimling gegenüber den toxischen Einflüssen von IP etwas weniger empfindlich ist als das Muttertier und daß die bei ihm gefundenen Anzeichen einer Schädigung immer sekundärer Natur sind.

Die beiden geprüften Dosen von DMI (50 mg/kg/Tag p.os und 40 mg/kg/Tag sc.) sind für Muttertier und Foeten toxisch.

Bei sc. Injektion von 2-OH-IP scheinen die Verhältnisse in bezug auf die unterschiedliche Toxizität für Muttertiere und Keimling ähnlich zu liegen wie bei IP; p.os wird 2-OH-IP sehr viel besser toleriert als IP.

Diese Resultate stimmen mit den publizierten Daten z. T. recht gut überein. Die in Tab. 2 zusammengestellten Werte für die akute DL₅₀ sowie die 28-tägigen toxi-kologischen Untersuchungen mit IP und 2-OH-IP an der Ratte (Tab. 3) bestätigen, daß bei dieser Tierart die sc. Injektion von IP schlechter vertragen wird als die

orale Gabe und daß der 2-Hydroxy-Metabolit wesentlich weniger toxisch wirkt als IP.

Die Befunde von Jelinek et al. [56, Tab. 5], nach denen bei repetitiver Applikation IP 10 mg/kg/Tag p.os für Muttertier und Nachkommen einen beginnenden „effect level“ erreichen, wurden durch die vorliegende Untersuchung bestätigt, ebenso die Feststellung von Stenger et al. [80], daß IP 50 mg/kg/Tag p.os für das trächtige Weibchen und seine Nachkommen eindeutig toxisch wirken. In Übereinstimmung mit den beiden letztzitierten Publikationen konnte in den eigenen Versuchen an der Ratte für IP ebenfalls keine teratogene Potenz nachgewiesen werden (sowohl nach oraler als auch sc. Applikation). Auch DMI und 2-OH-IP bewirken p.os und sc. verabreicht, selbst in Dosen, die das Muttertier schädigen, keine Mißbildungen. Die häufig beobachteten Ossifikationshemmungen (insbesondere am Schädel skelett) beruhen auf einer unspezifischen Schädigung des Foeten, wie sie mit vielen anderen Substanzen bei genügend hoher Dosierung hervorgerufen werden kann.

Da nach toxischen Dosen von IP sowohl nach oraler als auch nach sc. Verabreichung in embryonalen Stadien dosisabhängig vermehrt Resorptionen auftreten, drängt sich die Frage nach der Ursache des gehäuften Keimtodes auf. Stirbt der Keimling infolge einer schweren und letalen Mißbildung oder durch eine direkte toxische Wirkung von IP? Um diese Frage anzugehen, wurden Einzelapplikationen einer für das Muttertier toxischen Dosis (100 mg/kg) zwischen 7. und 16. (p.os) bzw. 8. und 12. Tag p.c. (sc.) verabreicht. Die Resultate beider Serien lassen an keinem der untersuchten Trächtigkeitstage eine erhöhte Zahl an Resorptionen oder Anomalien — außer Zeichen der Unreife am Kopfskelett — erkennen. Es muß somit angenommen werden, daß die repetierte Applikation toxischer Dosen von IP direkt das Absterben des Keimlings bewirkt, ohne vorher eine Mißbildung zu verursachen. Als weiteres Indiz für diese Interpretation ist die Tatsache zu werten, daß bei repetitiver Applikation fast alle Früchte kurz nach den ersten Verabreichungen von IP absterben, d. h. bevor sich eine schwere Mißbildung morphologisch ausbilden kann.

Einen ähnlichen Fall beobachteten z. B. Beck et al. [1] mit Niagara-Blau 4B bei einmaliger Applikation am 9. Tag p.c. Selbst nach Dosen, welche für die gravide Ratte toxisch wirken, tritt keine nennenswerte Zahl mißgebildeter Keimlinge auf, während die Resorptionsquote dosisabhängig zunimmt. Da die Embryonen innerhalb 3 Tagen nach Applikation des Farbstoffes absterben, nehmen die Autoren an, daß der Tod durch eine direkte toxische Wirkung der Substanz verursacht wird.

2. Kaninchen

Abb. 10 stellt die Einstufung der Verträglichkeit von IP, DMI, 2-OH-IP und TH für die graviden Kaninchen und deren Nachkommen dar.

Aus Abb. 10 ist zu erkennen, daß alle geprüften Dosen von IP und DMI für das Muttertier eindeutig toxisch sind und daher die bei den Foeten beobachteten Abweichungen von den Kontrollwerten im Sinne eines sekundären Effektes interpretiert werden müssen. Bei 2-OH-IP und TH liegen die Verhältnisse etwas weniger eindeutig, da in einer Dosis, die für das Muttertier nur einen beginnenden „effect level“ darstellt, bereits ein größerer Prozentsatz der Foeten Abnormitäten aufweist (17 bzw. 35%).

Der Befund von Harper et al. [50, Tab. V], nach welchem bei Neuseeländer-Kaninchen für die sc. Injektion von IP eine enge Korrelation zwischen mütterlicher und embryonaler Toxizität im Hinblick auf die Zahl der abgestorbenen und mißgebildeten Keimlinge besteht, wurde durch die vorliegenden Untersuchungen an Tieren der Rasse Gelbsilber vollumfänglich bestätigt: nach IP 10 mg/kg/Tag sc. waren die Muttertiere bereits eindeutig geschädigt (retardierte Gewichtsentwicklung, vereinzelt Symptome), doch weisen lediglich 2 von 74 Foeten (= 3%) Befunde auf; in den Dosen 20 und 30 mg/kg/Tag erhöht sich der Prozentsatz der Abnormitäten auf 12 bzw. 10%, und erst bei 50 mg/kg/Tag, d. h.

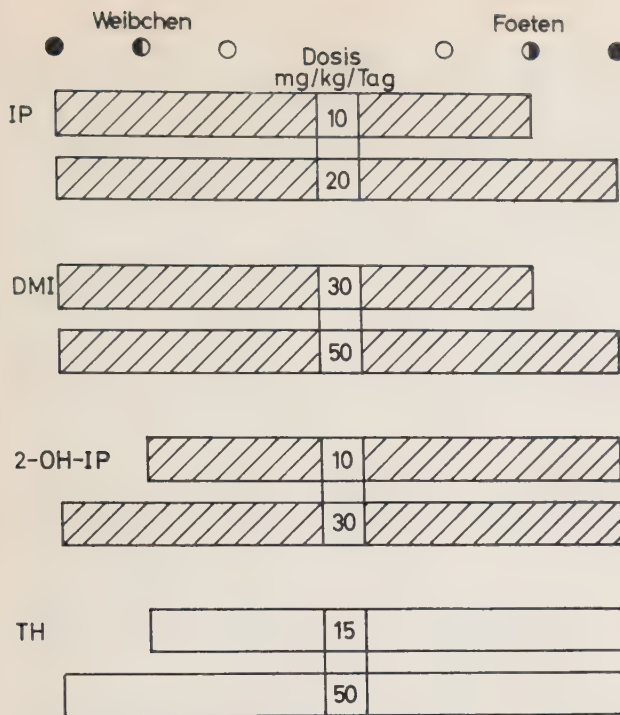


Abb. 10: Einstufung der Verträglichkeit von IP, DMI, 2-OH-IP und TH für gravide Kaninchen und deren Nachkommen. ● = „no-effect level“; ○ = beginnender „effect level“; ◐ = „effect level“; ◑ = p.os.-Applikation; ◑ = sc. Applikation.

bei einer Dosis, welche für gravide Kaninchen sehr toxisch ist, treten 54% Mißbildungen auf.

Diese Zusammenhänge erklären zwanglos die von Robson et al. [71] gesehenen Mißbildungen nach sc. Applikation von IP in Dosen zwischen 5 und 30 mg/kg/Tag. Aus welchen Gründen die Autoren keine Zeichen der Unverträglichkeit bei den Muttertieren feststellen konnten, ist an Hand ihrer wenigen Angaben nicht zu eruieren.

Das von Larsen [63] verwendete Kaninchen „Weißer Däne“ scheint für IP etwas weniger empfindlich zu sein, da der Autor nach sc. Applikation von 25 mg/kg/Tag lediglich bei 1 von 22 Foeten einen verkürzten Schwanz beobachten konnte. Die Zahl der in diesem Experiment verwendeten Tiere ist jedoch zu gering, um eine eindeutige Aussage zu machen.

Eine gleiche Korrelation zwischen mütterlicher und foetaler Toxizität wie für IP besteht nach vorliegenden Ergebnissen auch für DMI, dessen teratogene Potenz aber relativ schwach ist. Die gesehenen Befunde sind mit wenigen Ausnahmen nicht gravierender Natur. Die schwache, sekundär bedingte (d. h. durch eine Schädigung des Muttertieres hervorgerufene) Teratogenität sowie die Tatsache, daß nach der Applikation von DMI bei den Muttertieren keine schweren Symptome festgestellt wurden, lassen sich vielleicht auf die extrem kurze Halbwertszeit der Substanz beim Kaninchen (nach intravenöser Verabreichung ca. 1 h) zurückführen. Ungeklärt bleibt jedoch die starke Toxizität des Präparates für die Muttertiere.

Um die Frage nach eventuellen kausalen Zusammenhängen in der Wirkung von IP, DMI und 2-OH-IP auf das gravide Kaninchen und seine Nachkommen leichter beantworten zu können, werden die Resultate

der aussagekräftigsten Versuchsparameter für die drei Substanzen in Tab. 22 zusammengestellt und aus Vergleichsgründen die Ergebnisse mit TH beigelegt.

Betrachtet man IP, DMI und 2-OH-IP (jeweils sc. verabreicht) als zusammengehörig, d. h. als Ausgangssubstanz und Metabolite, so läßt sich auf den in Tab. 22 für Muttertiere und Nachkommen zusammengefaßt beurteilten Versuchsparameter folgende Hypothese aufbauen: die Toxizität von IP für das Muttertier (Retardierung der Gewichtsentwicklung, Symptome) kommt durch eine Addition der Toxizitäten von DMI und 2-OH-IP zustande, während der Einfluß von IP auf den Keimling sowohl in bezug auf embryonalen Keimtod, als auch im Hinblick auf das Mißbildungsmuster durch den Metaboliten 2-OH-IP bestimmt wird.

In bezug auf den Metabolismus von IP würde diese Hypothese folgendes bedeuten: wenn die orale Verabreichung von IP in relativ hohen Dosen vom Muttertier gut vertragen wird und bei den Nachkommen keine Anomalien beobachtet werden, so müßten mütterliche Toxizität und teratogene Wirkung nach sc. Injektion von IP zumindest teilweise darauf zurückgeführt werden, daß bei gleicher Dosierung innerhalb kürzerer Zeit höhere Plasma- und Organkonzentrationen erzielt werden und daß in quantitativer Hinsicht ein differentes Metabolitenmuster den Organismus erreicht. Mit anderen Worten: bei sc. Applikation von IP findet sich wahrscheinlich infolge der rasch eintretenden höheren Konzentrationen im Gewebe ein ziemlich hoher Spiegel an 2-OH-IP, während bei oraler Verabreichung durch relativ protrahierte Resorption und damit langsameren Metabolisierung im Hinblick auf eine teratogene Wirkung nur unerschwellige Konzentrationen an 2-OH-IP entstehen. Für diese Interpretation sprechen das nach sc. Verabreichung von IP und 2-OH-IP beobachtete Auftreten gleichartiger Symptome bei den Muttertieren (siehe Tab. 18) und die qualitativ weitgehend analogen Mißbildungen sowie die Tatsache, daß IP beim Kaninchen relativ rasch zu 2-OH-IP und DMI abgebaut wird, wobei mengenmäßig 2-OH-IP, welches sich stärker teratogen als IP erwiesen hat, überwiegt.

Neben metabolischen Aspekten kann auch die Toxikologie des IP, DMI und 2-OH-IP Anhaltspunkte für eine Erklärung der fruchtschädigenden Wirkung (Ratte: embryonale Resorptionen; Kaninchen: Resorptionen und Mißbildungen) im Sinne eines Sekundäreffektes dieser Verbindungen bieten. In Tab. 2—4 sowie im Abschnitt „Nebenwirkungen und Intoxikationen beim Menschen“ finden sich zahlreiche Hinweise auf eine Beeinträchtigung des Kreislaufsystems durch toxische Dosen von Iminodibenzyliden.

Die Kreislaufinsuffizienz nach hohen Dosen von IP, DMI und 2-OH-IP könnte beim Muttertier eine mehr oder weniger starke Hypoxie auslösen, welche ihrerseits zu einer Schädigung des Embryos, d. h. zu Miß-

Tab. 22: Vergleichende Zusammenstellung der wichtigsten Versuchsparameter von IP, DMI, 2-OH-IP und TH.

Parameter	IP sc.	DMI sc.	2-OH-IP sc.	TH p.os.
Muttertier				
Gewichtsentwicklung	dosisabhängig stark retardiert	dosisabhängige Abnahme	retardiert in hohen Dosen	dosisabhängig retardiert
Symptome	schwer	leicht	schwer	keine
Nachkommen				
Tote Keimlinge	dosisabhängig erhöht	schwach erhöht	dosisabhängig erhöht	dosisabhängig erhöht
Teratogenität	sekundär	sekundär	sekundär	sekundär
Mißbildungen				
ZNS	++	(+)	++	+++
Wirbelsäule	+ (50 mg/kg)	+ (50 mg/kg)	+ (50 mg/kg)	+++
Vorderextremitäten	+	+	++	+++
Hinterextremitäten	+ (50 mg/kg)	(+)	++ (50 mg/kg)	++
Viscera	+	(+)	++	++ (50-100 mg/kg)

(+) = vereinzelt; + = einige; ++ = relativ viele; +++ = häufig; () = Befund nur in angegebenen Dosen (für IP, DMI, 2-OH-IP: jeweils höchste untersuchte Dosis).

bildung oder embryonalem Tod, führen kann. Die nachfolgend aufgeführten Arbeiten aus der Literatur würden eine Interpretation in diesem Sinne stützen, wobei zu bedenken ist, daß verschiedene Stämme und Genotypen auf ein und dasselbe Agens sehr unterschiedlich reagieren können.

Degenhardt u. Mitarb. [24, 25, 26] exponierten gravide Kaninchen einmal zwischen 7. und 15. Tag p.c. während 2 bis 7³/₄ h einem Unterdruck von ca. 300 mm Hg. Diese kurze Zeit genügte um z.T. schwere Mißbildungen an ZNS, Viscerocranium, Wirbelsäule und Rippen hervorzurufen.

Werden gravide Ratten zwischen 1. und 15. Tag p.c. für verschiedene Zeiten in Unterdruck-Kammern gehalten, so finden sich bei Sektion der Muttertiere je nach Methodik degenerierte Eier, Resorptionen sowie vorwiegend Herz- oder Augenmißbildungen [19, 34, 85, 86]. Einmaliger Sauerstoff-Unterdruck während 24 h zwischen 5. und 16. Tag p.c. provoziert keine Resorptionen, führt jedoch zu Herzmißbildungen [49]. Die durch kurzfristige Abklammerung (max. 3 h) des einen graviden Uterushornes hervorgerufene Hypoxie bewirkt Wachstumshemmung, schwere Mißbildungen an ZNS, Viscerocranium, Extremitäten und Viscera. Die Zahl der Resorptionen ist teilweise proportional der Abklammerungszeit erhöht [15, 35, 38].

Bei der nicht graviden Ratte wurde nach oraler bzw. ip. Applikation von IP eine Reduktion des Futterkonsums festgestellt [67, 78]. Diese Wirkung kommt durch eine pharmakodynamisch bedingte Benommenheit der Tiere zustande, welche die Ratten an einer normalen Futteraufnahme hindert. Das Phänomen des verminderten Futterkonsums erklärt zumindest teilweise die von anderen Autoren beschriebene und in vorliegenden Arbeit beobachtete Retardierung der Gewichtsentwicklung bzw. Abnahme des Körpergewichtes, nicht nur nach der Applikation von IP, sondern auch von DMI und 2-OH-IP bei Ratte und Kaninchen.

Über die Folgen ungenügender bzw. fehlender Ernährung für gravide Tiere und ihre Früchte liegen lediglich bei der Maus publizierte Daten vor. Nach beschränktem Futterangebot während der Trächtigkeit wiesen 5,6% der Nachkommen Gaumenspalten auf [58]. Mußten trächtige Mäuse zwischen 7. und 12. Tag p.c. während 24 bis 72 h fasten, so trat ebenfalls eine Erhöhung der Anzahl Gaumenspalten ein [57], oder es wurden schwere Anomalien wie Exencephalie, Wirbel- und Rippenmißbildungen beobachtet [74, 75].

3. Schlußfolgerungen

Die erwähnten Faktoren wie Kreislaufinsuffizienz und Hypoxie oder Einschränkung des Futterkonsums und ihre Auswirkungen im teratologischen Versuch zeigen, wie wichtig es ist, auch allgemeine Verträglichkeit und pharmakologisches Wirkungsspektrum des zu untersuchenden Präparates bei Planung und Interpretation eines derartigen Experimentes zu berücksichtigen. In der Teratologie gilt allgemein das ungeschriebene Gesetz, wonach eine Dosis, vermutlich gleich welcher Substanz, die für das Muttertier toxisch ist, im empfindlichen Zeitpunkt der Trächtigkeit verabreicht, mit größter Wahrscheinlichkeit zu einer Fruchtschädigung in Form von Mißbildung oder unmittelbarem Keimtod führt. Nun sucht man aber im teratologischen Experiment, vor allem bei der Prüfung von Medikamenten, nicht nach einem sekundär d. h. toxisch bedingten teratogenen oder embryociden Effekt, sondern nach einer primär keim-schädigenden Potenz des Präparates. Diese Fragestellung bedingt, daß in einem derartigen Versuch nur Dosen zur Anwendung gelangen dürfen, die für das Muttertier, auch bei repetitiver Applikation, eindeutig atoxisch sind und zu keinen unerwünschten pharmakodynamischen Nebenwirkungen führen.

Werden die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unter toxikologisch-pharmakologischen Gesichtspunkten beurteilt, so gilt unter den dargelegten Versuchsbedingungen für die Ratte: Weder IP noch DMI oder 2-OH-IP weisen an dieser Species eine primär-keim-schädigende Wirkung auf. Eine Erhöhung von Resorptionsquote und Zahl der Foeten mit Befund tritt erst bei

Verwendung von Dosen auf, die für das Muttertier eindeutig toxisch wirken. Beim Kaninchen wurde für keine der untersuchten Substanzen ein „no-effect level“ für das Muttertier erreicht. In bezug auf IP und DMI darf daher mit Sicherheit angenommen werden, daß erhöhte Resorptionsquote und Mißbildungen sekundär-toxischer Natur sind. Mit einiger Wahrscheinlichkeit gilt eine derartige Beurteilung auch für 2-OH-IP.

Welche Schlüsse dürfen aus den Ergebnissen gezogen werden, wenn man die Resultate der vorliegenden Untersuchungen unter dem Blickwinkel des Metabolismus von IP beurteilt? Wie aus dem Kapitel über den Stoffwechsel von IP hervorgeht, bauen Mensch und Ratte diese Verbindung auf fast identische Weise ab, während zum Kaninchen in quantitativer und z. T. auch qualitativer Hinsicht klare Unterschiede bestehen:

Ratte und Mensch: vorwiegend Demethylierung von IP und Accumulation von DMI.

Kaninchen: vorwiegend Hydroxylierung von IP sowie rasche Konjugation und Ausscheidung der Abbauprodukte (2-OH-IP und 2-OH-DMI).

Da sich heute allmählich die berechtigte Erkenntnis durchsetzt, daß Versuchsergebnisse an Tierarten, deren Metabolismus sich grundlegend vom menschlichen unterscheiden, inadäquat sind, liegt das Schergewicht der Aussage im Falle des IP auf den Ergebnissen der Ratten-Versuche.

Da IP, p.os oder sc. verabreicht, für die Ratte weder eine primär-keim-schädigende noch eine sekundär-teratogene Potenz aufweist, besteht kein Anlaß anzunehmen, daß beim Menschen eine Behandlung mit Tofranil während der Schwangerschaft, auch im besonders empfindlichen ersten Trimester, für die Frucht eine Gefahr darstellen könnte. Die drei bis 1964 berichteten Fälle von kongenitalen Anomalien, bei denen Tofranil allein oder in Kombination mit anderen Medikamenten während der kritischen Phase der Embryonalentwicklung eingenommen wurde, lassen sich statistisch als reine Koinzidenz erklären [66]. Diese geringe Zahl an Beobachtungen und das Fehlen neuerer Berichte über ein Auftreten von Mißbildungen im Zusammenhang mit Tofranil berechtigen zur Auffassung, daß die Substanz offenbar auch für den Menschen keine teratogene Potenz besitzt.

Das Kaninchen, bei welchem nach sc. Applikation für das Muttertier toxischer Dosen von IP, DMI und 2-OH-IP Mißbildungen beobachtet werden, bildet im Gegensatz zu Ratte und Mensch beim Abbau von IP einen relativ hohen Prozentsatz an 2-OH-IP. Da dieser Metabolit in den vorliegenden Versuchen eine stärkere teratogene Potenz als die Mutter-substanz aufweist, kann mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß das Stoffwechselprodukt 2-OH-IP für die beim Kaninchen auftretenden Anomalien nach Injektion von IP verantwortlich gemacht werden muß.

Zusammenfassung

Nach einführender Besprechung der in der Literatur publizierten Daten über Metabolismus, Toxikologie und Reproduktionstoxikologie des 5-(3-Dimethylamino-propyl)-10,11-dihydro-5H-dibenz[b,f]azepin-hydrochlorid (Imipramin, Wirkstoff von Tofranil®), wird über eigene Untersuchungen mit dieser Substanz und ihren beiden Hauptmetaboliten, Desmethyl-imipramin (DMI) und 2-Hydroxyimipramin (2-OH-IP), an graviden Ratten und Kaninchen berichtet.

Unter den gewählten Versuchsbedingungen an der Ratte weisen weder Imipramin (IP) noch DMI oder 2-OH-IP, p.os und sc. verabreicht, eine unmittelbar keim-schädigende Wirkung auf. Die Erhöhung von Resorptionsquote und Zahl der Foeten mit Befund (vorwiegend Zeichen der Unreife am Skelett) tritt erst in Dosen auf, welche für das Muttertier toxisch wirken. Es wird nachgewiesen, daß die Resorptionen höchstwahrscheinlich durch eine direkte toxische Wirkung von IP auf den Keimling zustande kommen, ohne daß vorher eine Mißbildung entsteht.

Beim Kaninchen kann unter ähnlichen Versuchsbedingungen bei s.c. Injektion von IP und DMI angenommen werden, daß erhöhte Resorptionsquote und Mißbildungen sekundär-toxischer Natur, d.h. Folge einer Schädigung des Muttertieres sind und höchstwahrscheinlich durch den Metaboliten 2-OH-IP hervorgerufen werden. Dieser wird aus IP als Hauptabbauprodukt gebildet und weist eine stärkere sekundär-teratogene Potenz auf als die Muttersubstanz.

In der Diskussion wird hervorgehoben, daß im Hinblick auf eine Extrapolation von teratologischen Tierversuchen auf den Menschen nur diejenigen Experimente einen optimalen Aussagewert besitzen, welche unter Berücksichtigung von Pharmakodynamik, Toxikologie und Metabolismus der Prüfsubstanz geplant werden.

Summary

Teratologic Studies on Imipramine in Rats and Rabbits. A contribution to lay-out and interpretation of teratologic studies with special consideration of biochemistry and toxicology of the test substance.

Following introductory notes on published data of metabolism, toxicology, and reproduction toxicology of 5-(3-dimethylaminopropyl)-10,11-dihydro-5H-dibenz[b,f]azepine hydrochloride (imipramine, active principle of Tofranil®), own studies on this substance and its two chief metabolites, desmethyl-imipramine (DMI) and 2-hydroxy-imipramine (2-OH-IP), performed on pregnant rats and rabbits are reported.

Under the test conditions chosen neither imipramine (IP) nor DMI nor 2-OH-IP administered orally or s.c. show direct embryotoxic effects in the rat. The increase of the resorption rate and number of foetuses with abnormalities (mainly signs of immaturity of the skeleton) occurs only at doses that are toxic for the mother animal. It is shown that very probably the resorptions are effected by a direct, toxic activity of IP on the embryo before malformations can develop.

Under similar test conditions in the rabbit with s.c. injection of IP, DMI, and 2-OH-IP, it can be assumed that increased resorption and malformations rate are of secondary toxic nature, i.e. they are the consequences of toxic impairment of the mother animals probably induced by the metabolite 2-OH-IP. This substance is the main metabolite of IP and shows a stronger secondary teratogenic potency than the mother substance.

The discussion emphasizes that for an extrapolation from teratologic animal tests to conditions in man only such experiments possess optimal value, whose lay-out takes into consideration pharmacodynamics, toxicology, and metabolism of the test substance.

Literatur

- [1] Beck, F. u. Lloyd, J. B., The teratogenic effects of azo dyes. *Advances in teratology*. Vol. I. Edit. D. H. M. Woolam, Logos Press, 1966
- [2] Bernhard, K. u. Beer, H., Aktivitäten der Expirationskohlenensäure, des ZNS und anderer Organe nach Gaben von ¹⁴C-signiertem N-(γ-Dimethylaminopropyl)-iminodibenzyl (Psychopharmakon Tofranil) an Ratten und Hunde. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **20**, 114—121 (1962)
- [3] Berti, T. u. Ferrari, M., Metabolismo e dosaggio della imipramina. *Arch. ital. Sci. farmacol.* **10**, 122—127 (1960)
- [4] Berti, T. u. Cima, L., Influence of species, sex and temperature on metabolism of phenothiazines and related drugs. *Psychopharmacol. Serv. Cent. Bull.* **2**, 76—77 (1962)
- [5] Bickel, M. H. u. Baggiolini, M., Der Stoffwechsel von Imipramin und seiner Metaboliten bei der Ratte. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **23**, C 77 — C 79 (1965)
- [6] Bickel, M. H. u. Baggiolini, M., The metabolism of imipramine and its metabolites by rat liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.* **15**, 1155—1169 (1966)
- [7] Bickel, M. H., Weder, H. J. u. Baggiolini, M., Vergleich der Metabolitenmuster im Gehirn, anderen Organen und Harn am Beispiel von Thymoleptica. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **24**, C 77 — C 78 (1966)
- [8] Bickel, M. H., Brochon, R., Friolet, B., Herrmann, B. u. Stöfer, A. R., Clinical and biochemical results of a fatal case of desipramine intoxication. *Psychopharmacologia (Berl.)*, **10**, 451—456 (1967)
- [9] Bickel, M. H., Flückiger, M. u. Baggiolini, M., Vergleichende Demethylierung von tricyclischen Psychopharmaka durch Rattenleber-Mikrosomen, Naunyn Schmiedeberg's *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **256**, 360—366 (1967)
- [10] Bickel, M. H., Untersuchungen zur Biochemie und Pharmakologie der Thymoleptika. *Fortschr. Arzneimittelforsch.* **11**, 121—225 (1968)
- [11] Bickel, M. H. u. Weder, H. J., The total fate of a drug: kinetics of distribution, excretion, and formation of 14 metabolites in rats treated with imipramine. *Arch. int. Pharmacodyn.* **173**, 435—463 (1968)
- [12] Boissier, J.-R., Simon, P. u. Witschitz, S., Etude chez le cobaye de la toxicité cardiaque de l'imipramine, de l'amitriptyline et de leurs dérivés monodésméthylés. *Thérapie* **20**, 67—73 (1965)
- [13] Brent, R. L. u. Franklin, J. B., Uterine vascular clamping: new procedure for the study of congenital malformations. *Science* **132**, 89—90 (1960)
- [14] Brock, N. u. v. Kreybig, Th., Teratogenese als pharmakologisch-toxikologisches Problem. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **14**, 655—664 (1964)
- [15] Cassano, G. B. u. Hansson, E., Autoradiographic distribution studies in mice with ¹⁴C-imipramine. *Int. J. Neuropsychiat.* **2**, 269—278 (1966)
- [16] Cattano, M., Intossicazione acuta da Tofranil. *Ricerche sperimentali*. Thesis, Catania, 1965/1966
- [17] Cheikhzadeh, A. u. Scholer, H., Das Krankheitsbild der Imipraminintoxikation (Tofranil). *Helv. med. Acta* **31**, 518—524 (1964)
- [18] Christiansen, J., Gram, L. F., Kofod, B. u. Ra-faelsen, O. J., Imipramine metabolism in man. *Psychopharmacologia (Berl.)* **11**, 255—264 (1967)
- [19] Clemmer, T. P. u. Telford, I. R., Abnormal development of the rat heart during prenatal hypoxic stress. *Proc. Soc. exp. Biol.* **121**, 800—805 (1966)
- [20] Crammer, J. L. u. Scott, B., New metabolites of imipramine. *Psychopharmacologia (Berl.)* **8**, 461—468 (1966)
- [21] Crammer, J. L., Watt, D. C., Scott, B. u. Woods, H., Metabolism of imipramine. *Neuro-psycho-pharmacology. Proc. 5th intern. Congr. collegium internationale neuro-psycho-pharmacologicum*, March, 28—31, 1966, Washington. *Excerpta medica foundation*
- [22] Crammer, J. L., Scott, B., Woods, H. u. Rolfe, B., Metabolism of ¹⁴C-Imipramine. *Psychopharmacologia (Berl.)* **12**, 263—277 (1968)
- [23] Dawson, A. B., A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.* **1**, 123—124 (1926)
- [24] Degenhardt, K.-H., Durch O₂-Mangel induzierte Fehlbildungen der Axialgradienten bei Kaninchen. *Z. Naturforsch.* **9b**, 550—556 (1954)
- [25] Degenhardt, K.-H. u. Kladezky, J., Wirbelsäulen-mißbildung und Chordaanlage. *Z. menschl. Vererb.- u. Konstit.-Lehre* **33**, 151—192 (1955)
- [26] Degenhardt, K.-H., Phasenspezifität O₂-Mangel induzierter Wirbelsäulenmißbildungen beim Kaninchen. *Acta genet. (Basel)* **6**, 246—252 (1956)
- [27] Dingell, J. V., The physiological distribution and enzymatic metabolism of the antidepressant Imipramine (Tofranil). Thesis, Washington, 1962
- [28] Dingell, J. V., Sulser, F. u. Gillette, J. R., Metabolism of imipramine in rats and rabbits. *Fed. Proc.* **21**, 184 (1962)
- [29] Dingell, J. V., Sulser, F. u. Gillette, J. R., Species differences in the metabolism of imipramine and desmethyl-imipramine (DMI). *J. Pharmacol. exp. Ther.* **143**, 14—22 (1964)
- [30] Dingell, J. V. u. Sanders, E., Methylation of desmethylimipramine by rabbit lung in vitro. *Biochem. Pharmacol.* **15**, 599—605 (1966)
- [31] Douglas, B. H. u. Hume, A. S., Placental transfer of imipramine, a basic, lipid-soluble drug. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **99**, 573—575 (1967)
- [32] Faragó, A., Toxicological certification of fatal melipramine poisoning in a child. *Arch. Toxikol.* **21**, 30—37 (1965)
- [33] Faucou, G. u. Evreux, J.-C., L'expérimentation en toxicologie. *J. Méd. Lyon* **48**, 101—102 (1967)
- [34] Fernandez-Cano, L., Effect of increase or decrease of body temperature and hypoxia on pregnancy in rat. *Fertil. and Steril.* **9**, 455—459 (1958)
- [35] Field, L. E., Kreshover, S. J. u. Liebermann, J. E., Temporary uterine circulatory arrest as a cause of abnormal fetal development. *J. dent. Res.* **39**, 1240—1247 (1960)
- [36] Fishman, V. u. Goldenberg, H., Identification of a new metabolite of imipramine. *Proc. Soc. exp. Biol.* **110**, 187—190 (1962)
- [37] Fournier, P. E., Mellerio, F. u. Efthymion, M. L., Etude expérimentale de l'intoxication aigue par l'imipramine. *Anesth. Analg. Réan.* **23**, 263—269 (1966)
- [38] Franklin, J. B. u. Brent, R. L., The effect of uterine vascular clamping on the development of rat embryos three to fourteen days old. *J. Morph.* **115**, 273—290 (1964)
- [39] Fraser, F. C., Experimental teratogenesis in relation to congenital malformations in man. *Congenital malformations. Papers and discussions presented at the second international conference*. July 14—19, 1965, New York
- [40] Gillette, J. R., Dingell, J. V. u. Quinn, G. P., Physiological distribution and metabolism of imipramine (Tofranil). *Fed. Proc.* **19**, 137 (1960)
- [41] Gillette, J. R., Dingell, J. V., Sulser, F., Kuntzman, R. u. Brodie, B. B., Isolation from rat brain of a metabolic product, desmethylimipramine, that mediates the antidepressant activity of imipramine (Tofranil). *Experientia (Basel)* **17**, 417—418 (1961)
- [42] Giordano, E., Rilievi istologici eseguiti sugli organi di cavie sottoposte a trattamento con imipramina. *Le sindromi depressive*. Symposium Rapallo, 1960
- [43] Gottschewski, G. H. M., Können Tierversuche zur Lösung der Frage nach der teratogenen Wirkung von Medikamenten auf den menschlichen Embryo beitragen? *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **15**, 97—104 (1965)
- [44] Gottschewski, G. H. M., Das teratogene Risiko bei der Anwendung von Medikamenten. *Wien. med. Wschr.* **117**, 937—944 (1967)
- [45] Grosser, O. u. Ortmann, R., *Grundriß der Entwicklungsgeschichte des Menschen*. Springer Verlag, 1959

- [46] Hackenberger, I. u. v. Kreybig, Th., Vergleichende teratologische Untersuchungen bei der Maus und der Ratte. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **15**, 1456—1460 (1965)
- [47] Häfliger, F., Chemistry of tofranil. *Canad. psychiat. Ass. J.* **4** (suppl.), S 69—S 74 (1959)
- [48] Hansson, E. u. Cassano, G. B., Distribution and metabolism of antidepressant drugs. *Antidepressant drugs. Excerpta medica foundation, Amsterdam*, 1967
- [49] Haring, O. M., Cardiac malformations in the rat induced by maternal hypercapnia with hypoxia. *Circulat. Res.* **19**, 544—550 (1966)
- [50] Harper, K. H., Palmer, A. K. u. Davies, R. E., Effect of imipramine upon the pregnancy of laboratory animals. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **15**, 1218—1221 (1965)
- [51] Helm, F., Tierexperimentelle Untersuchungen und Dismelie-syndrom. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **16**, 1232—1244 (1966)
- [52] Herrmann, B., Schindler, W. u. Pulver, R., Papierchromatographischer Nachweis von Stoffwechselprodukten des Tofranil. *Med. exp. (Basel)* **1**, 381—385 (1959)
- [53] Herrmann, B. u. Pulver, R., Der Stoffwechsel des Psychopharmakons Tofranil. *Arch. int. Pharmacodyn.* **126**, 454—469 (1960)
- [54] Herrmann, B., Quantitative Methoden zur Untersuchung des Stoffwechsels von Tofranil. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **4**, 402—408 (1963)
- [55] Im Obersteg, J. u. Bäumler, J., Suicid mit dem Psychopharmakon Tofranil. *Arch. Toxikol.* **19**, 339—344 (1962)
- [56] Jelinek, V., Zikmund, E. u. Reichlova, R., L'influence de quelques médicaments psychotropes sur le développement du fœtus chez le rat. *Thérapie* **22**, 1429—1433 (1967)
- [57] Kalter, H., Preliminary studies on metabolic factors involved in production of cleft palate in mice. *Genetics* **59**, 975 (1954) (abstr.)
- [58] Kalter, H., Teratogenic action of a hypocortisone diet and small doses of cortisone. *Proc. Soc. exp. Biol.* **104**, 518—520 (1960)
- [59] v. Kreybig, Th., Tierexperimentelle Teratologie und Arzneimittelpfprüfung. *Med. Klin.* **61**, 1449—1454 (1966)
- [60] Kuhn, R., Über die Behandlung depressiver Zustände mit einem Iminodibenzyl-derivat (G 22 355). *Schweiz. med. Wschr.* **87**, 1135—1140 (1957)
- [61] Kuhn, R., Untersuchungen über mögliche Zusammenhänge zwischen Metabolitenausscheidung und Krankheitsverlauf depressiver Zustände unter Imipramin-Medikation. *Psychopharmacologia (Berl.)* **8**, 201—222 (1965)
- [62] Lamar, J. K., Consideration of the effects of drugs on reproduction. *Clin. Pharmacol. Ther.* **8**, 9—14 (1968)
- [63] Larsen, V., The teratogenic effects of thalidomide, imipramine HCl and imipramine-N-oxide HCl on white danish rabbits. *Acta pharmacol. (Kbh.)* **20**, 186—200 (1963)
- [64] Morin, H., La mise en évidence des effets tératogènes des médicaments. *Prod. Probl. Pharm.* **22**, 195—209 (1967)
- [65] N. N., Maßnahmen bei Intoxikationen mit Geigy-Pharmazeutika. Ausgabe 1965, Herausgeber: J. R. Geigy A.G., Basel
- [66] Oberholzer, R. J. H., Contribution à l'étude d'une action tératogène éventuelle de l'imipramine (Tofranil). *Méd. et Hyg. (Genève)* **22**, 557—559 (1964)
- [67] Opitz, K. u. Akinlaja, A., Zur Beeinflussung der Nahrungsaufnahme durch Psychopharmaka. *Psychopharmacologia (Berl.)* **9**, 307—319 (1966)
- [68] Peck, H. M., Maitis, P. A., Stornier, P. F. u. Zwickey, R. E., Toxicology. *Drug Inform. Bull.* **1**, 32—47 (1967)
- [69] Pletscher, A., Akute Intoxikation mit Antidepressiva: pharmakologische Grundlagen. *Ther. Umsch.* **12**, 158—163 (1965)
- [70] Pscheidt, G. R., Demethylation of imipramine in male and female rats. *Biochem. Pharmacol.* **2**, 501—502 (1962)
- [71] Robson, J. M. u. Sullivan, F. M., The production of foetal abnormalities in rabbits by imipramine. *Lancet* **638**—639 (1963)
- [72] Robson, J. M., The problem of teratogenicity. *Practitioner* **191**, 136—142 (1963)
- [73] Robson, J. M., The action of drugs on the embryo: a symposium. *Lex et Scientia* **1**, 99—109 (1964)
- [74] Runner, M. N., Inheritance of susceptibility to congenital deformity-embryonic instability. *J. nat. Cancer Inst.* **15**, 637—649 (1954)
- [75] Runner, M. N. u. Miller, J. R., Congenital deformity in the mouse as a consequence of fasting. *Anat. Rec.* **124**, 437—438 (1956) (abstr.)
- [76] Salewski, E., Färbemethode zum makroskopischen Nachweis von Implantationsstellen am Uterus der Ratte. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* **247**, 367—368 (1964)
- [77] Schindler, W., Über die Konstitutionsermittlung und Synthese eines Metaboliten von N-(γ -Dimethylaminopropyl)-iminodibenzyl-hydrochlorid (Tofranil®). *Helv. chim. Acta* **43**, 35—42 (1960)
- [78] Spengler, J. u. Waser, P., Der Einfluß verschiedener Pharmaka auf den Futterkonsum von Albino-Ratten im akuten Versuch. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* **237**, 171—185 (1959)
- [79] Starck, D., Embryologie, ein Lehrbuch auf allgemein biologischer Grundlage. Thieme-Verlag, 1965 (2. Auflage)
- [80] Stenger, E. G., Aepli, L. u. Fratta, I., Zur Frage der keim-schädigenden Wirkung von N-(γ -Dimethylaminopropyl)-iminodibenzyl-HCl am Tier. *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **15**, 1222—1224 (1965)
- [81] Sulser, F., Bickel, M. H. u. Brodie, B. B., The action of desmethylimipramine in counteracting sedation and cholinergic effects of reserpine-like drugs. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **144**, 321—330 (1965)
- [82] Theobald, W., Büch, O., Kunz, H. A., Morpurgo, C. Stenger, E. G. u. Wilhelmi, G., Vergleichende pharmakologische Untersuchungen mit Tofranil®, Pertofran® und Insidon®. *Arch. int. Pharmacodyn.* **148**, 560—596 (1964)
- [83] Theobald, W., Büch, O., Kunz, H. A. u. Morpurgo, C., Zur Pharmakologie von Metaboliten des Imipramins. *Med. Pharmacol. exp.* **15**, 187—197 (1966)
- [84] Thiele, J. u. Holzinger, O., Über o-Diamidodibenzyl. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **305**, 96—102 (1899)
- [85] Werthemann, A. u. Reiniger, M., Über Augenentwicklungsstörungen bei Rattenembryonen durch Sauerstoffmangel in der Frühschwangerschaft. *Acta anat. (Basel)* **11**, 329—347 (1950)
- [86] Werthemann, A., Reiniger, M. u. Thoelen, H., Untersuchungen über den Einfluß des Sauerstoffmangels auf die fötale Entwicklung von Säugetieren. *Schweiz. Z. Path.* **13**, 756—779 (1950)
- [87] Wilbrandt, W., Die biologische Halbwertszeit von Medikamenten, ihre Ermittlung und Bedeutung. *Schweiz. med. Wschr.* **94**, 737—745 (1964)
- [88] unveröffentlichte Daten

Anschr. d. Verf.: Dr. Lislott Aepli, Wissenschaftliche Laboratorien der J. R. Geigy A.G., Basel (Schweiz)

Curriculum vitae

Name:	Aeppli, Lislott
Heimatort:	Zürich
Geburtsdatum:	30. Juni 1936
Geburtsort:	Lausanne
1943—1955:	Primar- und Sekundarschule in Kriens (Kt. Luzern) und Zürich. Anschließend 1 Jahr Haushaltungsschule und 2 Jahre Verkäuferinnenlehre
1955—1957:	Private Mittelschule
Herbst 1957:	Eidgenössische Matura, Typ B
1957—1958:	1 Semester an der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich, Abteilung Naturwissenschaften. Vorlesungen und Kurse bei den Herren Dozenten Burri, Frey-Wyssling, Huber, Laves, Ruch, Schwarzenbach, Specker, Suter, Ulrich, Wildi
1958—1959:	2 Semester an der Universität Zürich, Philosophische Fakultät II
1959—1960:	2 Semester an der Universität Bern, Philosophisch-naturwissenschaftliche Fakultät Vorlesungen und Kurse bei den Herren Dozenten Huber, Lehmann, Lüscher, Lüttgau, Meili, Rosin, Schopfer, Spoerri, Weber, Welten
1960—1963:	Universität Zürich, Philosophische Fakultät II Vorlesungen und Kurse bei den Herren Dozenten Akert, Anders, Biegert, Burla, Chen, Daumer, Ernst-Schwarzenbach, Fritz-Niggli, Hadorn, Hediger, Huber, Kar- rer, Kuhn-Schnyder, Markgraf, Ober- holzer, Rutishauser, Schaeppi, Schlitt- ler, Schmid, Schultz, Schumacher, Stei- ner, Töndury, Trümpy, Wanner, Ulrich, Ziegler
Februar 1963:	Diplom als Naturwissenschaftlerin, Hauptfach Zoologie
seit 1963:	Volontärin, später wissenschaftliche Mitarbeiterin der J. R. Geigy A.G.

Die vorliegende Dissertation entstand unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. G. Töndury, Anatomisches Institut der Universität Zürich, dem ich an dieser Stelle für Anregungen und Hinweise herzlich danke. Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. E.-G. Stenger für seine wertvolle Hilfe in Rat und Tat bei Durchführung der Versuche.

